

Molekuláris epidemiológiai biomarkerek vizsgálata malignus fej-nyaki daganatokban

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Szanyi István

Programvezető: Prof. Dr. Ember István

Témavezetők: Dr. Kiss István

Prof. Dr. Gerlinger Imre

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Pécs, 2011

TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETÉS.....	3
I.1. FEJ-NYAKI TUMOROK EPIDEMIOLOGIÁJA	3
I.2. FEJ-NYAK TUMOROK ETIOLOGIÁJA ÉS RIZIKÓFAKTORAI	7
I.3. PREVENCIÓS LEHETŐSÉGEK-PREDIKTÍV EPIDEMIOLOGIA	11
II. CÉLKITŰZÉSEK.....	19
III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	20
III.1 C-MYC ÉS HA-RAS ONKOGÉNEK ÉS P53 TUMORSZUPPRESSZOR GÉNEXPRESSZIÓ VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA	20
III.2. CITOKRÓM P450 1A1 (CYP 1A1) ÉS AZ URIDIN-DIFOSZFÁT- GLUKURONOZILTRANSZFERÁZ 1A1 (UGT 1A1) ENZIMEK ALLÉL-POLIMORFIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA	22
III.3 AZ AFOBAZOL IN VIVO KEMOPREVENTÍV HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA	24
IV. EREDMÉNYEK.....	26
IV.1. C-MYC, HA-RAS ÉS P53 GÉNEXPRESSZIÓS VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI	26
IV.2. CYP1A1 ÉS AZ UGT1A1 ENZIMEK ALLÉLPOLIMORFIZMUS VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYE	28
IV.3. AZ AFOBAZOLE IN VIVO KEMOPREVENTÍV HATÁSÁNAK VIZSGÁLATÁNAK EREDMÉNYE	38
V. MEGBESZÉLÉS	41
VI. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA	50
VII. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	51
VIII. IRODALOMJEGYZÉK.....	52
IX. KÖZLEMÉNYEK	63
X. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	77

I. Bevezetés

I.1. Fej-nyaki tumorok epidemiológiája

A nemzetközi és az európai mortalitási adatok szerint a magyar férfiak az első, míg a magyar nők a második helyen állnak a daganatos mortalitási statisztikát illetően (1). A rosszindulatú daganatokat tekintve kiemelkedőek a fej-nyaki daganatokat érintő morbiditási és mortalitási statisztikák. Világszerte mintegy 540 000 új fej-nyaki laphámrákot diagnosztizálnak évente, melyek 50% feletti halálozási arányukkal komoly közegészségügyi problémát jelentenek (2). A hazai Központi Statisztikai Hivatal adatai szerint a felső légúti- és tápcsatornai daganatok által okozott halálozások száma nagymértékben megnőtt az 1970-es évek óta, ez különösen az ajak- és szájüregi malignus folyamatoknak köszönhető, melyek száma háromszorosára növekedett (3, 4). Ez a növekedés nagyjából az ezredfordulóig tartott, majd kis csökkenést mutatva a Magyar Központi Statisztikai Hivatal Demográfiai Évkönyve a 2005-ös évre vonatkozóan 15.5/100 000 főben állapította meg a malignus ajak-, szájüregi- és garatdaganatok mortalitási mutatóját (5). A nemzetközi adatok azt mutatják, hogy Magyarország már 1992-ben is vezette a malignus szájüregi daganatokkal kapcsolatos mortalitási statisztikákat 39.5/100 000 fővel. Ez a szám jelentősen magasabb, mint Franciaországban, mely a második helyen állt 29.1/100 000 fős arányával. 1959-től 1992-ig a magyar mortalitási arány 8.11-szeresére emelkedett (6).

Daganat	Esetszám		Növekmény (%-os)	Esetszám	Változás (%-os)
	1975	1999		2004	
Ajak-és szájüregi rák (C00-C14)	462	1618	250	1690	+15
Légcső-hörgő, tüdőrák (C33H0, C3400-C3430, C3480-C3490)	4169	7883	89	8260	+9
Vastag- és végbélrák (C18-C21)	3025	4912	62	4979	+2
Hasnyálmirigyrák (C2500-C2540, C2570- C2590)	1076	1562	45	1683	+11
Emlőrák (C5010-C5060, C5080- C5090)	1650	2381	44	2285	-6
Prostatarák (C61H0)	1196	1387	16	1275	-9

I. Táblázat

Hat nagy halálozási gyakoriságú daganat növekedési dinamikája 30 év alatt Magyarországon
(1975-2004) KSH Demográfiai Évkönyv 2005

Klinikánk a Dél-dunántúli régió malignus fej-nyaki daganatok ellátásának centruma. Az összehasonlítás végett feldolgoztuk az 1983. január 1. és 2002. december 31. között újonnan diagnosztizált tumoros eseteinket. A feltüntetett 20 éves periódusban 3312 új tumort észleltünk és a magyar és nemzetközi adatokkal korreláló eredményeket kaptunk (II. Táblázat). Intézetünk rosszindulatú daganatos beteganyagának feldolgozásával kapcsolatban a korábbiakban két közlemény is beszámolt már. Az 1958-1972 közötti 15 éves időszakban 1083 rosszindulatú tumoros megbetegedés fordult elő, míg 1973-1982 között összesen 1388 rosszindulatú daganatot diagnosztizáltunk (7, 8). Az utóbbi 20 év össztumorszám a korábbi időszakhoz arányítva annak kb. 2,5 szerese, míg a későbbi vizsgált időszak daganatszámának 1,5 szerese (III. Táblázat). Eredményeink szerint továbbra is a gégerákok vezetnek a listát, de nagy számban diagnosztizáltunk a korábbiaknak megfelelően hypopharynx daganatokat is. Úgy tűnik azonban, hogy a klasszikusan operálható, gégére lokalizálódó malignus daganatok

kezdenek csökkenni, ahogyan nem látni a korábbiakban típusos, csak a tonsillára lokalizálódó, jó prognózisú tumorokat sem. Egyre gyakrabban találkozunk viszont több régióra kiterjedő tonsillo-lingualis daganatokkal, sokkal rosszabb gyógyulási esélyekkel. Az utóbbi évtizedekben e csoport számának ugrásszerű növekedése volt megfigyelhető, korrelálva a KSH adataival (3, 4, 5). Korábbi közleményekben a gégetumoroknak csak a harmada, negyede volt számuk. Figyelemfelkeltő a kormegoszlást nézve (1. ábra), hogy egyre jobban a fiatalabb korosztály érintett, főként a mesopharynx és szájüregi malignus megbetegedések esetén. Megjelenésük 10-15 évvel korábbra tolódott, jelenleg a 45-55 éves korosztály a leginkább érintett.

	198 3	198 4	198 5	198 6	198 7	198 8	198 9	199 0	199 1	199 2	199 3	199 4	199 5	199 6	199 7	199 8	199 9	200 0	200 1	200 2	Σ:
Gége	49	40	34	44	34	43	45	51	37	47	24	43	36	51	48	46	36	44	61	52	865
Mesoph.	32	22	23	32	33	31	28	27	36	35	49	30	43	47	49	61	58	55	47	50	788
Orr-mü.	1	1	6	2	0	1	0	1	0	6	1	1	5	5	1	3	8	4	1	1	48
Epiph.	5	5	7	0	5	3	6	0	1	4	3	5	2	4	5	7	2	3	2	4	73
Bőr	51	35	48	41	56	53	47	57	37	45	30	67	43	34	29	41	48	50	44	46	902
Hypoph.	12	8	9	11	17	12	12	7	14	19	14	22	21	24	29	23	28	31	32	27	372
Pajzsm.	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	2	1	7	4	2	21
Trachea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	2	6
Oesoph.	6	5	1	2	3	4	1	3	0	2	1	2	2	4	3	3	1	0	3	0	46
Nyálmirigy	1	4	3	2	3	7	3	1	2	4	5	5	2	6	2	1	1	4	1	3	60
Primer nyaki daganat*	7	1	6	5	4	3	6	2	1	2	5	5	6	7	10	5	6	14	10	7	112
Középfül	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	2	0	0	2	0	10
Ajak,bucca	1	1	2	1	1	1	4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	15
Σ:	165	122	140	140	156	158	152	150	129	167	133	180	162	185	181	194	189	213	208	194	3318 *

*Megjegyzés: A magasabb 3318 összdaganatszám abból adódik, hogy néhány tumor több régióra is kiterjedt (pl.epi-,meso-, hypopharynx tumorok). Primer nyaki tumornak nevezzük azon szövettanilag igazolt malignus nyaki elváltozásokat, melyek szervhez nem köthetők, a nyak TNM szerinti alrégióiban helyezkednek el, szövettani vizsgálat alapján nyirokszövetet nem tartalmaznak, s a szervezetben egyéb helyen azonos szövettannal rendelkező elváltozás nem mutatható ki.

II. Táblázat

Évenkénti daganatmegoszlás a PTE ÁOK Fül-, Orr-, Gégészeti Klinikán 1983-2002 között

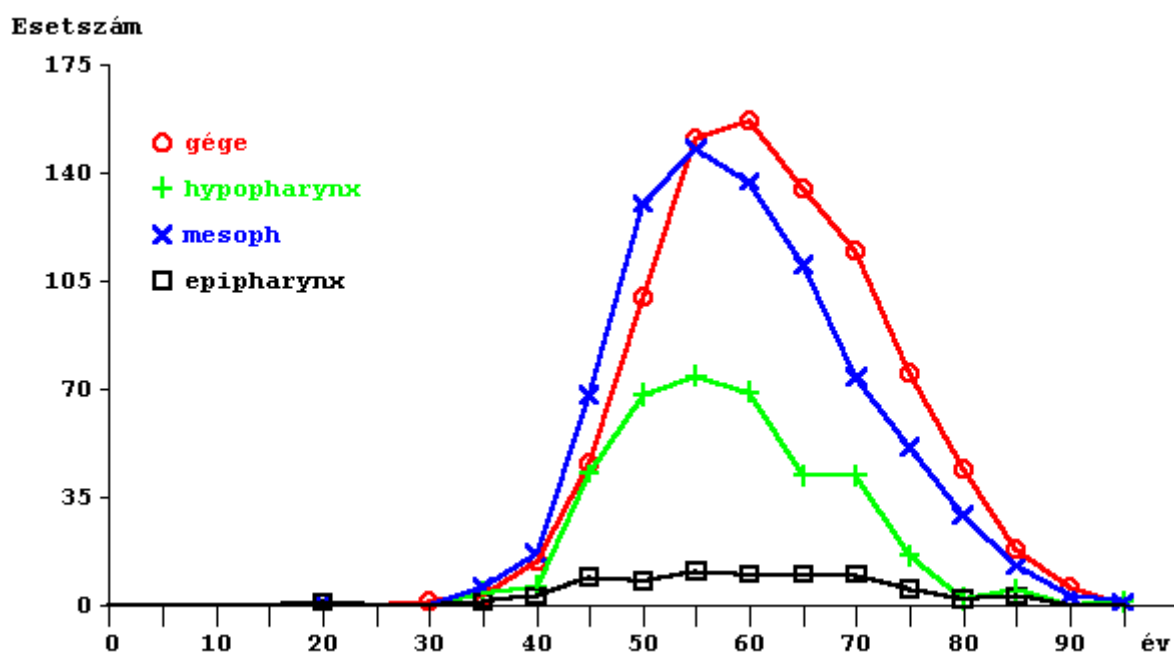
	Bőr össz./év	Orr-mü. össz./év	Epiph. össz./ év	Mesoph. össz./év	Hypoph. össz./év	Gége össz./év	Oesoph. össz./év	Trachea össz./év	Egyéb* össz./év	Össz./év
1958- 1972 15 év	190/12.6	60/4	57/3.8	172/11.4	95/6.3	411/27.4	54/3.6	18/1.2	26/1.73	1083/72
1973- 1982 10 év	226/22.6	51/5.1	61/6.1	219/21.9	134/13.4	590/59	40/4	5/0.5	62/6.2	1388/138
1983- 2002 20 év	902/45.1	48/2.4	73/3.65	788/39.4	372/18.6	865/43.2	46/2.3	6/0.3	218/10.9	3318/165

III. Táblázat

A POTE Fül-Orr-Gégeklinikán 1958-1972, 1973-1982 illetve 1983-2002 között diagnosztizált rosszindulatú daganatok számának összehasonlítása

*Megjegyzés: A korábbi közleményekkel való összehasonlíthatóság végett az egyéb csoportba soroltuk a pajzsmirigy, a nyálmirigyek, a középfül, az ajak és bucca tumorait, s ide tartoznak a primer nyaki tumorok is.

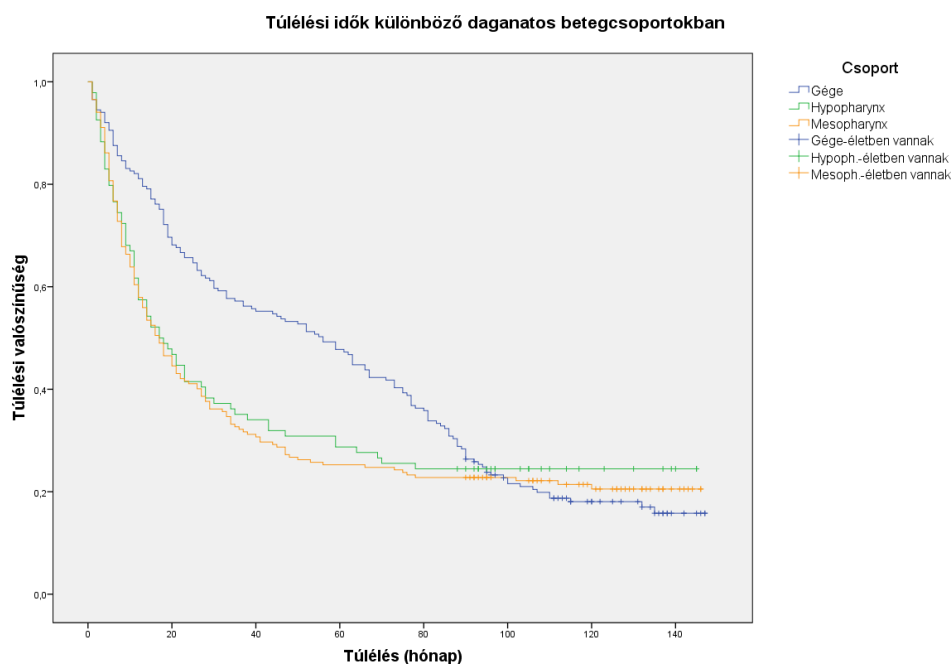
ÖSSZESÍTŐ KORMEGOSZLÁS 1983 - 2002



1. ábra

Összesítő kormegoszlás 1983-2002 között a PTE ÁOK Fül-, Orr-, Gégészeti Klinika malignus beteganyagában

Szomorú képet mutatnak az 1998 és 2002 között klinikánkon diagnosztizált 501 gége- (201), hypopharynx (96) és mesopharynx (204) tumoros páciens túlélési adatai is. A gégerákos csoport átlagos túlélése hónapokban számolva 62,1 hónap, a hypopharynx tumorosoké 49,1 hónap a mesopharynx daganatban szenvedő pácienseké pedig átlagosan 45,7 hónap. Az összes beteget tekintve a túlélés átlaga 52,9 hónap volt, szövettanilag csaknem valamennyi laphámrák (92,6 %). A különböző csoportok túlélési görbéit az 2. ábra szemlélteti.



2. ábra

A gége- , mesopharynx-, és hypopharynx daganatos betegek túlélési görbéi

I.2. Fej-nyak tumorok etiológiája és rizikófaktorai

A fej-nyaki daganatok kialakulását befolyásoló etiológiai tényezők közül elsősorban az elvileg megváltoztatható magatartásformák, mint a dohányzás és túlzott alkoholfogyasztás szerepe emelhető ki. A hazai dohányzási szokások Európában a legrosszabbak között vannak,

valamint az egy főre eső tömény szeszfogyasztásban is élen járunk (4), így nem meglepő, hogy napjainkban Magyarországon fordul elő a legtöbb szájüregi és garatrák.

Bár a közép-európai térségben főként cigaretta formájában fogyasztják a dohányt, a dohányzás füsttel, vagy füst nélkül is rendkívül karcinogén. A premalignus és malignus szájüregi nyálkahártyaléziók incidenciája egyre magasabb a fiatal amerikaiak körében a „smokeless tobacco” terjedése miatt. A tubákolás az orrüregi daganatok, a pipázás az ajakrák, a dohány- és bételdió-rágcsálás pedig a buccarák előfordulási gyakoriságát fokozza. A passzív dohányzás kétszeresére növeli a dohányosokkal együtt élők körében a légúti rákban történő megbetegedésének valószínűségét (3).

Az ismert dohány égéstermékek közül a legjelentősebbek a karcinogenezis szempontjából a dimetil-benzantracén, a metil-kolantrén és a benzpirén, melyek komplett karcinogének. Emellett a dohányfüst több száz policiklusos aromás szénhidrogént és a pirolízis során keletkező nagyszámú dohányspecifikus nitrózaminokat tartalmaz (legjelentősebb képviselőjük az N-nitrozo-nornikotin, NNN). Hatásukat a keratinociták replikációjának károsításával fejtik ki, a hám felszínén hiperplázia, keratinizáció és metaplázia kialakításával, elindítva a karcinogenezis többlépcsős folyamatát (9). A dohányzás hirtelen abbahagyása csak lassan vezet eredményhez, a magas kockázatot legalább 3 évig nem befolyásolja, ezután a rizikó csak fokozatosan csökken, és csak kb. 10-15 év múlva éri el a nemdohányzók szintjét (10).

Az etanol elősegíti a dohányfüst karcinogén anyagainak felszívódását, így a fej-nyaki tumorok előfordulásának rizikóját akár tízszeresére is növelheti e két faktor szinergizmusa (11, 12). A két tényező kockázatának pontos mennyiségi megállapítása igen nehéz, mivel ezek a destruktív életmódot folytató betegek gyakran mindkét abúzuszszt használják (9).

Rossz szájhygiéne

A szájhygiéne szerepét bizonyítja, hogy mérsékelt mennyiségű alkohol fogyasztása után, a felhalmozódott dentális plakk patogén mikroflórája által termelt dehidrogenázok hatására, jelentős mennyiségű acetaldehid mutatható ki a nyálban, mely háromnapos antibakteriális szájöblítő-használat után szignifikánsan csökken. Az elhanyagolt fogazat, letöredezett fogak,

a hibás, nyálkahártyát, gingivát sértő, irritáló fogprotézis krónikus gyulladáshoz, prekancerózus elváltozásokhoz vezetnek (9).

Helytelen táplálkozás

A rákképződés kockázatát emelheti a túlzott mennyiségű füstölt élelmiszer (mely jelentős mennyiségű benzpirént tartalmaz) főleg alkoholfogyasztással párosulva. A nagy arányban fogyasztott zsíros, fűszeres, rost- és vitaminszegény ételek, valamint az élelmiszeripar által alkalmazott tartósítószer, adalékanyagok karcinogén hatása régóta ismert. A leromlott állapotú, rossz szociális helyzetű páciensek alkoholos malnutritiója, az antioxidáns és védőfaktorok bevitelének csökkenése önmagában is komoly rizikótényező (13).

Életkor és nem, mint rizikófaktor

A malignus fej-nyaki tumorok döntő többsége a férfiak körében fordul elő, a férfi:nő arány 20:1 és a gégerákos betegek 80%-a a 40-70 év közötti korosztályból kerül ki, bár a fiatalabb korosztály egyre nagyobb arányú érintettségét látjuk (14).

Infekciók

Az Epstein-Barr vírus (EBV) hatását a nasopharingealis karcinóma kapcsán bizonyították.

A human papilloma vírusok (HPV) szerepét főleg olyan, fiatal páciensek esetében vetik fel, ahol az egyéb, hagyományos kockázati tényezők kizárhatók. Szájüregi papillomákban, leukoplakiás léziókban és karcinómákban is találtak HPV DNS-t. A laryngealis papillomatosis HPV-6 és -11 asszociált, míg a HPV-16 és -18 szekvenciák a gége verrucosus karcinómaiban jelentkeztek (15).

A gombás fertőzések (pl. *Candida albicans*) opportunista fertőző ágensként helyi vagy szisztémás immunszuppresszió esetén fordulnak elő a szájnyálkahártya normális flórájának sérülése esetén (9).

Foglalkozás, mint etiológiai faktor

Az orrüreg és a paranasalis sinusok karcinómáinak (különösen az adenokarcinómáknak) magasabb incidenciáját figyelték meg bútormunkások, kárpitosok, építőmunkások, és ékszerkészítők körében, mely a fűrészpor, azbeszt- és nikkelpor inhalációval tűnik

kapcsolatosnak, (15) a szabadban dolgozók pedig az ultraibolya sugárzás okozta ajakrák veszélyének vannak kitéve.

Krónikus vashiány

A krónikus vashiány (Plummer-Winson szindróma) alultápláltsággal, krónikus alkoholfogyasztással (A- és E vitaminhiánnyal) szövődve a nyelv és postcricoid terület karcinómáinak etiológiai faktora lehet nőknél (14,15).

Egyéb külső tényezők

Ionizáló sugárexpozíció - különösen gyermekkorban - fokozza a pajzsmirigyrák és a nyálmirigy-tumor kialakulásának veszélyét. A pontos pathomechanizmust nem ismerve a levegőszennyezettség, a rossz szociális viszonyok, a stressz ugyancsak szerepet játszhatnak a karcinogenezis folyamatában, a betegek késői orvoshoz fordulása az előrehaladott stádiumok miatt pedig a túlélési esélyeket rontja.

Endogén, genetikai tényezők

A betegség két kiemelkedő kockázati tényezője tehát a dohányzás és az alkoholfogyasztás, ennek ellenére azonban csak a dohányosok kis részében alakulnak ki fej-nyaki daganatok (16). Ez a tény is igazolja, hogy a környezeti hatás érvényesüléséhez a szervezet állapota lényegesen hozzájárul, ezt viszont nagymértékben endogén, genetikai tényezők határozzák meg.

Hasonlóan más tumorokhoz, a fej-nyaki tumorok kialakulásának kockázatát exogén (környezeti) és endogén (genetikai) tényezők kölcsönhatása határozza meg. Az exogén tényezők közül jól ismert a dohányzás, az alkoholfogyasztás, valamint a környezeti karcinogen anyagok fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatára gyakorolt hatása. Míg az örökletes, ún. magas penetranciájú genetikai faktorokat jól ismerjük, addig az alacsony penetranciájú, ún. egyéni érzékenységi tényezők szerepe még sok daganatnál, így a fej-nyaki daganatoknál sem pontosan tisztázott.

I.3. Prevenciók lehetőségei-prediktív epidemiológia

A legtöbb fej-nyaki daganat szövettanilag laphámrák. Habár fejlett sugár-, kemoterápiás és sebészeti protokollok léteznek, a fej-nyaki malignus tumorban szenvedő betegek túlélése nem javult szignifikánsan az elmúlt évtizedekben. Annak ellenére, hogy a fej-nyaki régió fizikális vizsgálata egyszerű, a manifeszt elváltozások már viszonylag korán felfedezhetők, szűrővizsgálat jelenleg nincs hazánkban. A rossz halálozási statisztikának egyik legfőbb oka, hogy a betegek többsége későn, előrehaladott stádiumban fordul orvoshoz, amikor regionális vagy távoli metasztázis már jelen van, és a kuratív terápia eleve reménytelen. A fej-nyaki rákok morbiditásának és mortalitásának javulását a primer és szekunder prevenciók keresztül lehetne elérni. A primer prevenció a karcinogén anyagok elkerülésére összpontosít, fej-nyaki rákok esetében például a mérsékelt alkoholfogyasztásra és dohányzás mellőzésére. A szekunder prevenció (szűrés) a betegség korai, premorbid stádiumában való felismerését célozza. A primer és szekunder prevenció határán a molekuláris és prediktív epidemiológia játszik fontos szerepet a daganatok prevenciójában. A primer és a szekunder prevenció határán mozog a prediktív és molekuláris epidemiológia, mely a korai biomarkerek segítségével mint érzékeny biológiai indikátorokkal az expozíció→betegség folyamat valamely lépését a definitív betegség diagnosztikus markereinek pozitivitása előtt jelzi (17). Így a manifeszt tumor megjelenése előtt, akár már az expozíció vagy a korai biológiai hatás stádiumában a veszélyeztetett populáció, illetve egyén azonosítása lehetővé válik, továbbá az egyéni érzékenység markereivel egyéni rizikóbecslés végezhető. A korai biomarkerek a daganatos betegségek esetében nemcsak prognózist, hanem a magas rizikót, a veszélyeztetettséget is jelezhetik, így primer prevenciók intézkedései (kemo-, immun-és genetikai prevenció), intervenciók végrehajtásának kiindulási alapjai lehetnek: munkavédelem, a munka-és környezet-egészségügyi expozíció csökkentése vagy az egyének kiemelése a káros környezetből (18).

A terciér prevenció a betegek rehabilitációját, a szövődmények, a metasztázisok, a recidívák kivédését jelenti.

Onkogén és tumor szuppresszor gén expresszió

Az olyan korai biomarkerek felismerésével, mint az onkogének és tumorszuppresszor gének expressziójának változása, mind a tumor fejlődése, mind pedig a terápia hatásossága (pl. minimális reziduális betegség) nyomonkövethető (19). Mivel az onkogének és tumorszuppresszor gének döntő szerepet játszanak a karcinogenezisben (20, 21), ezen gének expressziójának elemzése megfelelő eljárásnak tűnik a karcinogén expozíció korai felismerésére (22, 23).

A PhD értekezésben a *c-myc* és a *Ha-ras* onko-, valamint a *p53* tumor szuppresszor gén expresszióját tanulmányoztuk különböző stádiumú és primer lokalizációjú fej-nyaki tumoros esetekben a definitív terápia előtt és után. A tanulmányban vizsgált gének kulcsfontosságú fontos szerepet játszanak a karcinogenezisben, ún. kulcsgének; a *Ha-ras* gén a karcinogenezis iniciációjában, a *p53* gén a DNS károsodásra adott válaszból vesz részt. A *c-myc* onkogén a proliferációra és az immortalizációs folyamatokra fejt ki hatását (20, 21, 23, 24).

A *c-myc* protoonkogén egyike a korán felfedezett onkogéneknek. A *c-myc* gén egy transzkripciósfaktort kódol, mely a sejt differenciálódásában, a proliferáció kontrolljában és az apoptózisban működik közre, aktiválódása a malignus transzformáció egyik fontos induktora. A sejteket ismét proliferációra bírja, a sejtciklust továbbviszi.

A faktor egy ún. Max proteinnel heterodimért képezve szekvencia-specifikusan a DNS-hez kötődik, és transzkripciósfaktorként DNS-szintézist indukálva transzformált sejt kialakulását is okozhatja.

A *Ha-ras* (Harvey-ras) gén a ras géncsaládba tartozik, ismeretes további tagjai a Ki-ras és az N-ras gének. A *Ha-ras* (Harvey-ras) egy a membránban elhelyezkedő monomer G-proteint kódol, mely a GTP-GDP hidrolízist katalizálja, normál esetben az iniciációban játszik szerepet, aktiváció esetén folyamatos proliferációs stimulust küld a sejtmag felé.

Ennek megfelelően – és a másik két említett génhez hasonlóan – a *Ha-ras* gén overexpresszióját is számos daganatban megtalálták.

A tumorszuppresszor gének szerepe, hogy a sejtekben elnyomják a tumorsejtek transzformációjáért felelős gének hatását, meggátolják a malignus sejtek proliferációját,

károsodásuk esetén ez a funkció elvész. A tumorsuppresszor fehérjék legismertebb képviselője a *p53* fehérje, mely a sejtciklus szabályozásában, az apoptózis indukálásában és a DNS-reparálásban vesz részt. A humán daganatok több mint 50%-a mutálódott *p53* gént tartalmaz. A *p53* tumorsuppresszor gén az egyik legintenzívebben tanulmányozott humán gén. A *p53* gén nevét az általa kódolt *p53* fehérjéről kapta, mely 393 aminosavból álló 53 kDa nagyságú fehérje, mely folyamatosan ellenőrzi a DNS integritását. Genomkárosodás esetén G1 fázisban leállítja a sejtciklust (25) mindaddig, amíg a károsodás kijavítása meg nem történik, vagy ennek hiányában apoptózist indukál. Így a genetikailag károsodott, pl. tumoros sejt osztódását akadályozza meg. A *p53* fehérje által indukált apoptotikus folyamat végrehajtó enzimeit a proteolitikus aktivitással bíró kaszpázok, melyek szubsztrátfehérjéiket aszparaginsav mellet hasítják.

A feltételezésünk az volt - Ember és mtsai-hoz hasonlóan, akik etilén-dioxid expozíció hatására emelkedett onkogén és tumorsuppresszor gén expressziót, valamint bizonyos daganattípusok megjelenését észlelték -, hogy a fenti gének expressziója az általunk tanulmányozott daganatos populációban is emelkedett (19).

Célunk annak bizonyítása volt, hogy a fej-nyak régió daganatai a *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziójának emelkedéséhez vezetnek.

Metabolizáló enzimek allélpolimorfizmusai

Amennyiben sikerülne azonosítani a tumorkialakulás szempontjából fokozott kockázatnak kitett személyeket, csoportokat s primer prevenció lépés követné ezt, a kialakulás kockázata mérséklődne. A daganatkialakulás kockázati tényezői között lehetnek exogén faktorok, pl. foglalkozási vagy környezeti carcinogén expozíciók, melynek elkerülésére, csökkentésére irányuló intézkedések a primer prevencióhoz tartoznak. Számos epidemiológiai tanulmány foglalkozott a külső karcinogén faktorok elemzésével. A tumorkialakulás kockázatát azonban endogén, genetikai tényezők is befolyásolják. Jól ismerjük az örökletes, ún. magas penetranciájú genetikai faktorok többségét, de az alacsony penetranciájú genetikai tényezőket még kevésbé azonosították. Ez utóbbiakhoz tartoznak azok az allélpolimorfizmusok, amelyek a ritka, magas penetranciájú allélekhez viszonyítva gyakoriságuk miatt a populáció járulékos kockázatára nagyobb hatással vannak, de az egyéni érzékenységet csak kismértékben fokozzák. Az alacsony penetranciájú genetikai tényezők

legnagyobb csoportját alkotják a metabolizáló enzimek gén polimorfizmusai. A környezeti karcinogéneket metabolizáló enzimek számos allél polimorfizmusa rizikófaktort jelent a human karcinogenezisben. Az ún. I-es fázisú enzimek a szervezetbe került prokarcinogéneket aktiválják karcinogénné elektrofil metabolit formájában, majd a II-es fázisú enzimek valamilyen konjugációs reakcióval inaktíválják ezen metabolitokat, egyúttal megkönnyítve a szervezetből történő eliminálásukat is. A környezeti karcinogének mellett tehát a metabolizáló enzimek aktivitása is befolyással bír a karcinogének szervezeten belüli koncentrációjára, a behatási időre, s így a daganat kialakulásának kockázatára. A metabolizáló enzimek aktivitására sok tényező hatással van, de az egyik legjelentősebb az enzim genotípusa. A metabolizáló enzimek többsége ugyanis genetikailag polimorf, azaz többféle allélvariánsuk létezik. Ezen allélvariánsok között csak igen kis különbségek állnak fenn génszerkezetben, bázissorrendben, de jelentősebb különbségek lehetnek a gén expressziós szintjében, az enzimaktivitásban.

A metabolizáló enzimek géneinek polimorfizmusai tehát hatással vannak az enzimek aktivitására, detoxifikáló képességére, s így a daganatok kialakulásának kockázatára (26, 27). Jól ismert és sokat tanulmányozott enzimrendszer a citokróm P450 rendszer, mely a biotranszformáció első fázisaként molekuláris oxigén és NADPH felhasználásával hidroxilálja és aktiválja a policiklusos aromás szénhidrogéneket és nitrózaminokat-így pl. a dohányfüstben is megtalálható benzpirént- hatásos karcinogénekké (28). Ezután lép be a folyamatba a biotranszformáció második fázisaként pl. a glukuronidáló enzimrendszer, mely a karcinogén metabolitokhoz cukrot kötve vízoldékony molekulaként megkönnyíti azok szervezetből történő kiválasztását.

PhD értekezésben mint alacsony penetranciájú genetikai tényezőt vizsgáltuk a citokróm P450 rendszerhez tartozó CYP1A1 I-es fázisú és a glukuronidációs rendszerhez tartozó UGT1A1 (uridin-difoszfát-glukuroniltranszferáz 1A1) II-es fázisú enzimek allél polimorfizmusának fej-nyak rákok kialakulásának kockázat- és betegtúlélést befolyásoló szerepét.

CYP1A1 enzim

A CYP1A1 gén a daganatok kialakulásának kockázatával szoros kapcsolatban van, hiszen terméke, az aril-hidrokarbon-hidroxiláz (AHH) I-es fázisú metabolizáló enzimként a policiklusos aromás szénhidrogének metabolizmusában játszik fontos szerepet (29-31). A CYP1A1 által katalizált hidroxiláció leggyakrabban az első lépése az aromás szénhidrogének átalakulásának, amely – esetleg további metabolikus átalakulás után – aktív, a DNS-hez kötődni képes karcinogénné teszi a szervezetbe prokarcinogén formájában bejutott vegyületeket. Az enzim legismertebb szubsztrátja a benzo[a]pirén, amely előfordul a cigarettafüstben, kipufogógázban, és egyéb égési folyamatok melléktermékeként. A gén a 15-ös kromoszómán helyezkedik el, a 15q22-24 régióban (32), és számos allélvariánsa ismert. A CYP1A1 genetikai polimorfizmusai közül 3-at ismerünk legpontosabban. Egy *MspI* RFLP, a 3' nem kódoló régióban (33), egy A-G polimorfizmus a 7-es exon területén, amely a fehérjében *Ile/Val* polimorfizmust eredményez (33), és egy további *MspI* RFLP, amelyet azonban csak afrikai és amerikai négekben sikerült kimutatni, fehér vagy ázsiai populációkban nem (34). Az *Ile/Val* polimorfizmusnál az alléleket a kódolt aminosavak után *Ile* illetve *Val* alléleknek nevezzük, ahol az *Ile* homozigóta allél a gyakoribb, az *Ile* heterozigóta ill. *Val* homozigóta allél a ritka. Ázsiai, elsősorban japán populációkban a ritkább allél előfordulási gyakorisága 30-40% körüli, míg Európában kb. 10% (35, 36).

Az *Ile/Val* polimorfizmus összefüggésben van a dohányzás-okozta laphámrákok kialakulásával, mégpedig a ritkább allél jelentenek fokozott kockázatot, ahogy ezt japán vizsgálatok is bizonyították (33). A ritkább allél kockáztnövelő hatásának magyarázata abban lehet, hogy a *Val* allél által kódolt enzim AHH aktivitása nagyobb, mint az *Ile*-enzimé s ez – megfelelő mennyiségű szubsztrát jelenléte esetén – a bekerült karcinogének gyorsabb, fokozottabb metabolikus aktivációját eredményezi.

Uridin-difoszfát-glukuroniltranszferáz 1A1 enzim

Az uridin-difoszfát-glukuroniltranszferáz 1A1 (UDP-glukuroniltranszferáz 1A1, vagy UGT1A1) egy enzim, ami a biotranszformáció második fázisát, a glukuronidációt katalizálja. A glukuronidáció egy fontos metabolikus folyamat, mely a lipofil toxikus anyagokat polárisabb, vízben oldódó, kevésbé mérgező és könnyebben kiválasztható összetevővé alakítja azáltal,

hogy cukrot köt hozzájuk. Ezt a reakciót katalizálják az UGT enzimek, amiket 2 fő családba, az UGT1 és UGT2-be sorolnak (37). Az UGT1A1 fő metabolitjai az endogén bilirubin, xenobiotikumok, C18 szteroidok, zsírsavak, fenolok, carcinogének és ezen belül a dohányfüst káros összetevői (pl. benzpirén), melyek a fej-nyaki daganatok nagy százalékának kockázati tényezői.

Az UGT1A1 génje a 2q37 kromoszóma lókuszon foglal helyet és promóter régiójának sok genetikai variánsa van (38). Egy gén promóterének a feladata a transzkripció elindítása, ide kötődik az RNS polimeráz, ezért polimorfizmusa befolyással bír a génexpresszióra és a képződő enzim aktivitására. A core promóter régió (kb. 50 bázispár) része a TATA-box, mely egy könnyen denaturálható DNS-szakasz. Az ehhez kapcsolódó TATA-kötő fehérje, valamint transzkripciós faktorok biztosítják a stabil RNS-polimeráz kötődést. Változása esetén az RNS polimeráz kapcsolódásának esélye csökkenhet, így kevesebb enzim képződik.

Az UGT1A1 enzim génjének mintegy 63 genetikai variációja ismert, beleértve az egyszerű bázispár változásokat, frame shift mutációkat, insertiókat és deléciókat a promóter régióban és a gén 5-ös exonján és 2-es intronján (39). Legtöbbjükből nem képződik, vagy kevesebb, alacsonyabb aktivitású enzim képződik. Egyetlen genetikai variánsa esetén növekszik az enzimszint és számos mutáció hatása a mai napig ismeretlen. Az egyik leggyakoribb genetikai mutáció a gén promóter régiójának TATA-box régiójában található és a timin-adenin (TA) ismétlődések számában mutatkozik eltérés. A vad típus (UGT1A1 *1) normálisan 6 (TA) repeatet (A(TA)₆TAA) tartalmaz (6/6), míg a populáció mintegy 10-16%-ában eggyel több, 7 TA ismétlődés (UGT1A1 *28; 7/7) fordul elő homozigóta formában (40). Ez az eltérés az extra (TA) nukleotidok DNS polimorfizmusa kapcsán változó enzim expressziót eredményez, az extra TA dinucleotid insertiója esetén a transzkripciós aktivitás a vad allél (UGT1A1*1) aktivitásának 30%-ára csökken (37,38).

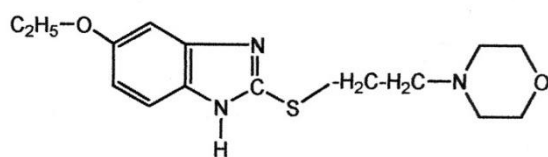
Kemoprevenció

Célunk volt továbbá malignus fej-nyaki daganatok esetén a primer prevenció részeként olyan kemo-ill. immunpreventív szerek kutatása, melyek bevezetésével a veszélyeztetettek korai prevencióban részesülhetnek. Kemopreventív szerek azok a természetes formában létező,

vagy mesterségesen előállított vegyületek, melyek daganatmegelőző hatásúnak bizonyultak és melyeket hatásuk alapján lehet egy csoportba sorolni, hiszen szerkezetük igencsak eltérő. Megemlítendő, hogy jelenleg nincs evidencián alapuló, hatásos kemoprevenciós szer. A legismertebb (részint természetes, részint szintetikus), többé-kevésbé bizonyított daganat-kemopreventív hatású anyagok: a szelén, az A, C, D3 vitamin és származékai, ez utóbbiak előanyagai (béta karotinok), különféle antioxidánsok a flavonglikozidok, indolok stb. Ugyanilyen hatásai vannak egyes zsírsavaknak (omega-3), vagy bizonyos növényi rost frakcióknak is. Ezek közül jó néhánynál mutattak ki hatást malignus fej-nyaki daganatokra is (41).

A primer prevenció egyik sikeres eszköze lehet a kemoprevenció, de minden lehetséges kemopreventív szert klinikai alkalmazása előtt vizsgálni kell. A Pécsi Tudományegyetem Népegészségtani Intézetében egy olyan teszt rendszer lett kifejlesztve, mely képes megbecsülni onkogén és tumor szuppresszor gén expresszió változások alapján a bioaktív vegyület potenciális kemopreventív hatását. Számos kemopreventív szert vizsgáltak meg ebben a teszt rendszerben, így pl. chalcon analógokat, mint a flavonoid bioszintézis köztes vegyületeit (42-44).

Plotnikov és kutatócsoportja írták le a bemetil (2-mercaptobenzimidazol) vegyületet, mely egy új gyógyszercsoporthoz, az actoprotectorokhoz tartozik, erős antimutagén hatást mutatva (45). In vivo vizsgálatok igazolták, hogy a bemetil csökkentette az ismert policiklusos aromás szénhidrogének egyik erős carcinogen hatással rendelkező tagjának, a 7,12-dimethylbenz[α]anthracén (DMBA) által indukált onko- és tumor szuppresszor gén overexpressziót rövid hatású vizsgálat során (46). A farmakológiailag aktív 2-mercaptobenzimidazol (bemitil, tomerzol, afobazol) származékok csökkenteni tudják kémiai prooxidánsok mutagen hatásait a szabad-gyök oxidáció indukálta endogén mutagén képződés gátlásával. C57B1/6 egér csontvelő sejtjein végzett kromoszóma aberrációs vizsgálat kimutatta, hogy az afobazol kivédi a dioxidin klasztogén hatásának létrejöttét, csökkenti citogén hatását, valamint statisztikailag szignifikáns csökkenést eredményezett a ciklofoszfamid által létrejött károsodás fokában (47).



3. ábra

Az afobazole szerkezete

Egy kemopreventív szer antimutagén és rákellenes hatása közötti koincidencia csaknem 90 %. Ezen tény és az előzetes in vitro vizsgálatok eredményei alapján megvizsgáltuk az afobazol DMBA indukálta onkogén (*Ha-ras*)/ szuppresszor gén (*p53*) overexpresszióra gyakorolt hatását egy rövid hatású teszt során. Célunk az afobazol in vivo kemopreventív hatásának igazolása volt. A DMBA egyike a policiklusos aromás szénhidrogén csoport (PAH) legfontosabb képviselőinek, egy genotoxikus carcinogen, mely onkogén és tumor szuppresszor gén pontmutációt okozva iniciátorként hathat (48).

II. Célkitűzések

1. Annak vizsgálata, hogy a fej-nyak régió malignus daganatai a *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziójának emelkedéséhez vezetnek, s így segítségével a tumor fejlődése, mind pedig a terápia hatásossága (pl. minimális reziduális betegség) korán felismerhető legyen.
2. A fenti génexpressziós vizsgálatok megbízható, a klinikai gyakorlatban is akár alkalmazható, perifériás vérből történő módszerének kidolgozása malignus fej-nyaki daganatoknál.
3. Annak bizonyítása, hogy van-e hatása a CYP1A1 enzim *Ile/Val* és az UGT1A1 enzim **1/*28* allél-polimorfizmusoknak a fej-nyak rákok kialakulásának kockázatára.
4. Annak vizsgálata, hogy a fenti allél-polimorfizmusok befolyásolják-e a fej-nyaki tumoros betegeink túlélését külön-külön és együtt is.
5. Az afobazol in vivo kemopreventív hatásának igazolása, mint akár a malignus fej-nyaki daganatok egyik lehetséges jövőbeni kemopreventív szere.

III. Anyagok és módszerek

III.1 C-myc és Ha-ras onkogének és p53 tumorsuppresszor génexpresszió változások vizsgálata

A daganatos csoport 116 beteget foglalt magába (95 férfi, 21 nő), az átlagéletkor 56.1 év volt (31-77 év), a malignus fej-nyaki daganatok diagnózisára 2003 februárja és 2007 januárja között került sor a Pécsi Tudományegyetem Fül-orr-gégészeti és Fej-nyaksebészeti Klinikáján. A primer kiindulási helyek a következők voltak: mesopharynx (32 eset), hypopharynx 16 eset, epipharynx (1 eset), gége (49 eset), szájüreg (9 eset), nyálmirigy (4 eset), bőr (2 eset) és orrmelléküreg (1 eset). Szövettanilag a daganatok többsége laphámrák volt, a kivételeket 2 adenocarcinoma, 2 neuroendocrin carcinoma, 1 chondrosarcoma és 1 anaplasticus carcinoma jelentette. Sebészi kezelés önmagában 37 betegnél, sebészi kezelés kiegészítő posztoperatív sugárterápiával 34 betegnél, sebészi kezelés neoadjuváns sugárterápiával pedig 13 betegnél történt. A sugárterápia mint egyedüli kezelés 29 betegnél indult, 1 inkurábilis, irrezekábilis T₄N₃ stádiumú mesopharynx carcinoma esetében pedig nem jött szóba definitív terápia. Az onko-/tumorsuppresszor gének expresszióját vizsgáltuk a definitív terápia előtt és amennyiben lehetséges volt, azt követően. Az eredményeket továbbá egy 33 főből álló (14 férfi, 19 nő, átlagéletkor 47.21 év, 32-79 év) egészséges, daganatos betegségtől mentes csoport eredményeivel hasonlítottuk össze (IV. Táblázat). A nem és kormegoszlást, valamint a dohányzási szokásokat tekintve nem volt eltérés a tumoros és a kontroll csoport között. A tumoros csoport 94 %-a (109), a kontroll csoport 97 %-a (32) volt dohányzó. Minden egyes résztvevőnél perifériás vérvétel történt (20 ml), melyet alvadásgátló anyaggal, natrium citráttal kezeltünk. Először 2 percig tartó ismételt centrifugálással (15000/min) fehérvérsejteket izoláltunk 89%-os ammonium chlorid és PBS (phosphat pufferolt sóoldat) oldatban, hogy osmolysissal eltávolítsuk a vörösvértesteket. Ezt követően guanidium thiocyanate-phenol-chloroform-savas (TRIzol, Invitrogen, Paisley, Anglia) eljárással extraháltuk az össz-RNS-t. Az RNS tulajdonságokat gél-elektroforézissel vizsgáltuk, az abszorpciós méréseket 260/280 nm-en végeztük. Az össz-RNS-ből tíz µg-ot dot-blottoltunk egy Hybond N+ nitrocellulóz membránra (Amersham, Little Chalfont, Anglia), és hibridizáltattunk chemiluminescens anyaggal jelölt *c-myc*, *p53* és *Ha-ras* génspecifikus mintákkal (ECL kit, Amersham). A hibridizáció és detektálása a gyártó utasításai szerint

történt. A jeleket röntgenfilmen rögzítettük, és Quantiscan szoftver (Biosoft, Cambridge, Anglia) átlagolása alapján értékeltük. Az eredményeket a β -aktin (konstitutíve expresszáldó endogén kontroll) százalékában fejeztük ki. A különböző csoportok összehasonlítása két mintás Student t-teszttel történt.

Résztvevők száma	149	(fő)	
Daganatos betegek	116		átlagéletkor 56.1 év (31-77 év)
Férfi	95		
Nő	21		
Kontroll betegek	33		átlagéletkor 47.21 év (32-79 év)
Férfi	14		
Nő	19		

Primer daganat lokalizáció	(eset)	Terápia	(fő)
Gége	49	Radioterápia	29
Hypopharynx	16	Műtét	37
Mesopharynx	32	Műtét+posztop. radioterápia	34
Szájüreg	9	Neoadj. radioterápia+műtét	13
Epipharynx	1	Műtét+posztop. kemoterápia	1
Orrmelléküreg	1	Kombinált kemo-radioterápia	1
Primer nyak tumor (ismeretlen eredetű)	2	Kezelés nem jött szóba	1
Bőr	2		
Nyálmirigy	4		

TNM státusz									
T ₀ N _{2c} 1		T ₀ N _{2b} 1							
T ₁ N ₀ 16	T ₁ N ₁ 4	T ₁ N _{2a} 3	T ₁ N _{2c} 1	T ₁ N ₃ 2	I. stádium: 16 beteg				
T ₂ N ₀ 17	T ₂ N ₁ 10	T ₂ N _{2a} 1	T ₂ N _{2c} 2	T ₂ N ₃ 2	II. stádium: 17 beteg				
T ₃ N ₀ 10	T ₃ N ₁ 25	T ₃ N _{2a} 13	T ₃ N _{2b} 1	T ₃ N ₃ 1	III. stádium: 49 beteg				
T ₄ N ₁ 4	T ₄ N _{2a} 1	T ₄ N ₃ 1	IV. stádium: 34 beteg						

IV. Táblázat A résztvevők kliniko-epidemiológiai jellemzői

III.2. Citokróm P450 1A1 (CYP 1A1) és az Uridin-difoszfát-glukuronoziltranszferáz 1A1 (UGT 1A1) enzimek allél-polimorfizmusának vizsgálata

A CYP1A1 Ile/Val és az UGT1A1 allél-polimorfizmus vizsgálat beteg és kontroll csoportja

A tumoros csoportot 142 fő alkotta (48 gége-, 42 hypopharynx- és 52 mesopharynx tumoros beteg), melyek mindegyike klinikánk beteganyagából került ki. A kontroll csoportot (150 fő) a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának más klinikáin ambuláns panaszokkal jelentkezők, vagy szűrővizsgálaton részt vevők alkották, és a vizsgálat idején illetve azt megelőzően semmilyen malignus betegség nem volt náluk kimutatható. A két csoport között átlagéletkorban, a nemek arányában, valamint a dohányosok és nemdohányzók arányában statisztikailag szignifikáns különbség nem volt. A tumoros populáció átlagéletkora 64,35 év volt (43-82 év) régiók szerint bontva: gégerákos betegeknél 63,77 év (44-82 év), hypopharynx tumorosoknál 62,80 év (43-79 év), mesopharynx tumorok esetén 66,15 év (45-81 év). Az egészséges csoportban az átlagéletkor 62,97 év (39-85 év) volt. Az összes beteg között 18 nő volt (gégetumoros 5, hypopharynx tumoros 7 és mesopharynx tumoros 6). A kontroll csoportban szintén 18 nő volt.

A vizsgálathoz szükséges DNS-t a kontroll csoport esetén perifériás vénás vérből izolált fehérvérsejtekből, a beteg csoport esetén pedig a Klinikánkon vett, a definitív diagnózis alapját adó biopsziás szövetmintából (paraffin block) nyertük. A paraffinos blokkoknál lehetőség szerint a peritumorális ép szövetekből történt a DNS-izolálás, bár korábbi összehasonlító vizsgálataink szerint a SNP-ek esetén a tumormintából történő DNS izolálás is megbízhatóan használható a genotipizáláshoz.

A CYP1A1 Ile/Val és az UGT1A1 allél-polimorfizmus vizsgálat

A perifériás vénás vér előkezelése

A kontroll alanyoktól levett, EDTA-val alvadásban gátolt vérből a vörösvértesteket 0,84%-os ammónium-klorid oldatban történő ismételt centrifugálásokkal (15000/min, 2 percig) távolítottuk el.

A szövettani minták deparaffinálása

A mintákat Eppendorf-csőben kétszer 15 percig xilolban deparaffináltuk. Ezután rehidráció (100-90-70-50% EtOH 5-5 percig), majd desztillált vizes öblítés történt, minden ismétlésnél a mintát centrifugálással (2 percig 2000 G) üleptítve.

A DNS izolálás fenol-kloroformos módszerrel történt (49).

UGT1A1 allél-polimorfizmus vizsgálata

Az UGT1A1 allél-polimorfizmus PCR (Techne Genius) vizsgálata esetén a TA-ismétlődések számának növekedése az UGT1A1 gén promóter régiójában két bázispárral hosszabb DNS-szakaszt eredményezett. A primerek: C = 5'-GTCACGTGACACAGTCAAAC-3' és D = 5'-TTTGCTCCTGCCAGAGGTT-3', melyek ellentétes irányokból 98, 100 és 102 bázispárt amplifikáltak a promóter régióból az UGT1A1 első exonján. A reakció paraméterei: 60 sec 95°C, 60 sec 60°C, 60 sec 72°C, 30 cikluson át. A reakcióelegy 2,5 µl 10x PCR MasterMix-et (PROMEGA), 19,5 µl vizet, 1 µl DNS-templát oldatot és 1-1 µl primer-oldatot tartalmazott.

Az allél fragmentek méretét nagy felbontású gélelektroforézis segítségével hasonlítottuk össze. A PCR-rel nyert és elektroforézis útján szétválasztott termékeket a képződött UGT1A1 génszakasz hosszúsága alapján három különböző genotípusba soroltuk: homozigóta variáns (TA)7/(TA)7, heterozigóta (TA)6/(TA)7 és vad típusú homozigóta (TA)6/(TA)6 (50).

A CYP1A1 Ile/Val allélpolimorfizmus vizsgálata

A 7-es exonban levő Ile/Val polimorfizmust allélspecifikus PCR segítségével vizsgáltuk. Ez két csőben párhuzamosan zajlott, ahol ugyanaz volt az upstream primer, de a downstream primerek az utolsó bázisban különböztek egymástól. Abban a csőben volt termék, ahol a downstream primer teljes egészében komplementer volt a DNS templát szekvenciával.

PCR reakcióelegy: 20 µl össztérfogatban 5 µl templát DNS oldat (koncentrációjától függően 2-10 µl között változhat) 1.5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 0.1% Triton X-100, 2 µg/ml bovin szérumalbumin, 4x0.2 mM dNTP, 0.5 U Taq DNS-polimeráz (PROMEGA), 1-1 µM primer. A reakció további paraméterei: 30 ciklus: 60 sec 94°C, 45 sec 59 °C, 90 sec 72 °C.

A primer szekvenciák az alábbiak voltak:

upstream: GAAAGGCTGGGTCCACCCTCT

downstream: AAGACCTCCCAGCGGGCAAT

AAGACCTCCCAGCGGGCAAC

A keletkezett termékeket 1.8 %-os agaróz gélben történt elektroforézissel tettük láthatóvá (51).

Statisztikai analízis

A túléléseket log rank teszttel hasonlítottuk össze, a csoportok közötti allélgyakoriságokat esélyhányados (odds ratio, OR,) 95 % megbízhatósági tartomány (confidence interval, CI) kiszámításával, valamint χ^2 próbával elemeztük. A kiértékelés az SPSS 19.0 statisztikai programmal (SPSS Inc., Chicago, USA) készült.

III.3 Az afobazol in vivo kemopreventív hatásának vizsgálata

Az afobazol-t Professzor Sergey Seredenintől kaptuk felhasználásra (State Zakusov Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia). A kukoricaolajat és a DMBA-t a francia Sigma-Aldrich cégtől vásároltuk.

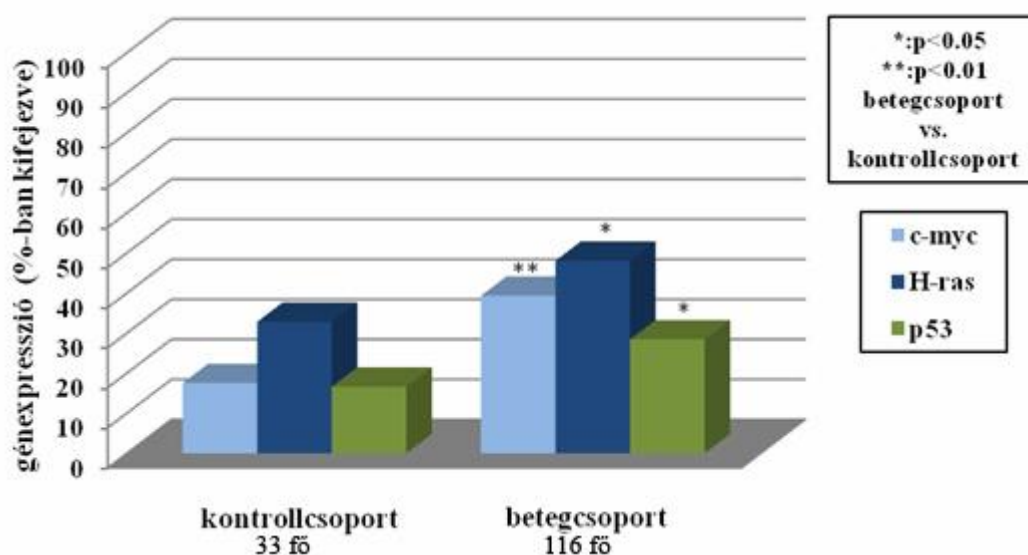
Hat 6-8 hetes nőstény CBA/Ca (érzékeny H-2^K haplotípusú) egérből álló, összesen hat csoportot használtunk vizsgálatainkhoz. Az állatok egyenként 20-25 grammosak voltak. 4 csoport intraperitonealisan (i.p.) egyszeri 40mg/kg dózisú kukoricaolajban oldott DMBA-val (8mg/ml) volt kezelve. A négy csoportból három emellett kapott i.p. 50mg/testsúlykg dózisú desztillált vízben oldott afobazolt (10 mg/ml). Az első csoport állat az afobazolt a DMBA kezelés után 24 órával, a második csoport egyszerre, a harmadik csoport a DMBA kezelés előtt 24 órával kapta meg. Az ötödik csoport kukoricaolajat és desztillált vizet kapott (i.p. 1

ml/testsúlykg dózisban), a hatodik csoport afobazolt (i.p. 50 mg/testsúlykg) 10 mg/ml desztillált vízben. Az állatokat felboncoltuk 24, 48, 72 órával az utolsó kezelés után. A thymus, a lép, a máj, a vese, a tüdő, a csontvelő és nyirokcsomók lettek eltávolítva. Teljes RNS-t izoláltuk guanidin-izotiocianát-fenol-kloroform módszer szerint (Trizol, Invitrogen, Paisley, Scotland, UK). Az RNS-t denaturáló gél-elektroforezisen ellenőriztük, az abszorpciós mérés 260/280 nm-en történt. 10 mikrogramm teljes RNS-t Hybond N+ nitrocellulose membránra vittünk dot-blott módszer szerint (Amersham, Little Chalfont, England, UK), majd kemolumineszcensen jelölt *p53* és *Ha-ras* génspecifikus próbákkal (ECL kit, Amersham) hibridizáltunk a gyártó utasításai szerint. A jeleket rtg-filmen detektáltuk, a kiértékelést Quantiscan software segítségével (Biosoft, Cambridge, UK) végeztük. Az eredményeket a konstitutív módon expresszált endogén kontroll β -aktin százalékában adtuk meg.

IV. Eredmények

IV.1. C-myc, Ha-ras és p53 génexpressziós vizsgálatok eredményei

Malignus fej-nyaki daganatos betegek *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* génjeinek expresszióját hasonlítottuk össze a kontroll csoportéval. A csoportokra vonatkozó átlagolt eredményeket a kontroll β -aktin szintek százalékában fejeztük ki. A daganatos csoportban szignifikánsan magasabb expressziót találtunk a *c-myc* (39.3 %, $p<0.01$), *Ha-ras* (48.4 %, $p<0.05$) és *p53* (28.4 %, $p<0.05$) gének tekintetében a kontrollcsoporthoz képest (17.6 %, 32.8 % és 16.6 %) (4. ábra).

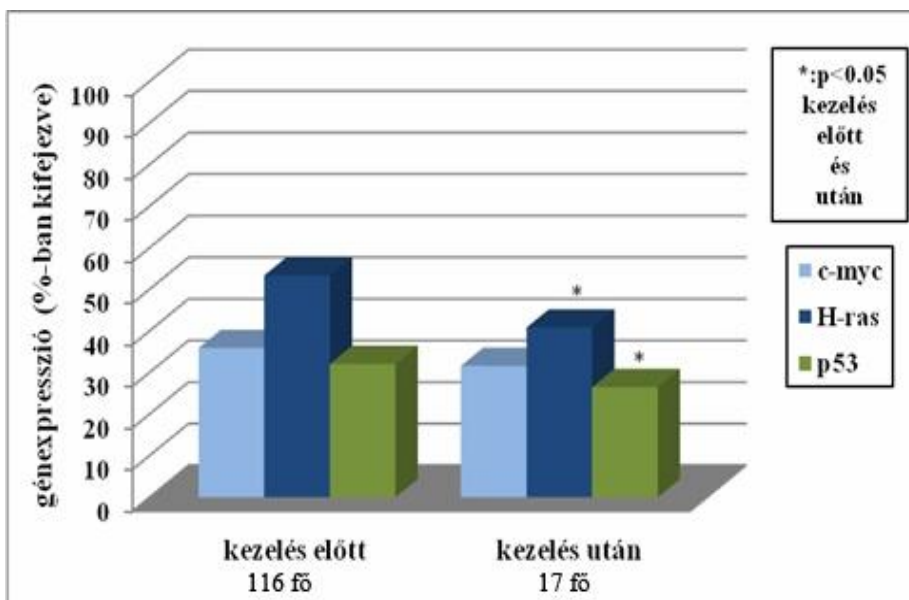


4. ábra

A *c-myc*, *H-ras* és *p53* gének expressziója a fej-nyaki daganatos és a kontrollcsoportban a β -aktin szint százalékában kifejezve

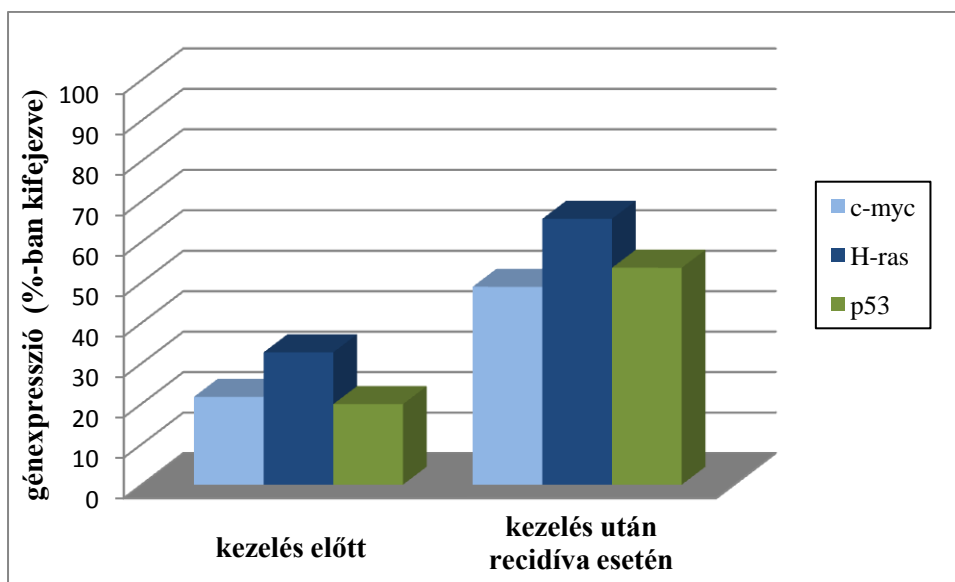
A fej-nyaki daganatos betegek kezelés előtti és utáni génexpressziós szintjeit egymással is összehasonlítottuk. A definitív kezelés előtti és utáni vérvétel között eltelt idő 2 év volt. A kezelés előtti vérmintát adó 116 betegből csak 18 főt sikerült elérni a kezelés utáni vérvétel céljából. A fennmaradó 98 beteget vagy nem sikerült elérni, vagy elhunytak a kezelést követő második év végére. A tanulmányt befejező 18 betegből 17 bizonyult klinikailag recidívamentesnek. Mind a 17 beteg csökkent expressziót mutatott a *c-myc* (36.9 %→30.6 % No S), *Ha-ras* (54.8 %→39.4 %, szignifikáns: $p<0.05$) és a *p53* (33 %→24.9 %, szignifikáns:

$p < 0.05$) gének vonatkozásában. A gén expresszió csökkenés a *Ha-ras* és *p53* esetében különösen nagymértékű volt (5. ábra). Recidívát 1 betegnél észleltünk. Ebben az egyedüli esetben az összes vizsgált expresszió emelkedett volt (*c-myc* 21.7 % → 48.9 %, *Ha-ras* 32.7 % → 65.7 %, *p53* 19.9 % → 53.6 %) (6. ábra).



5. ábra

Fej-nyaki daganatos betegek *c-myc*, *H-ras* és *p53* génexpressziói a kezelés előtt és után daganatmentes stádiumban a β -aktin szint százalékában kifejezve



6. ábra

A *c-myc*, *H-ras* és *p53* gének expressziója kezelés előtt és után a tanulmányban szereplő egyetlen recidív fej-nyaki tumoros esetben a β -aktin szint százalékában kifejezve

IV.2. CYP1A1 és az UGT1A1 enzimek allélpolimorfizmus vizsgálatának eredménye

A CYP1A1 *Ile/Val* ill. az UGT1A1 allél-polimorfizmusok vizsgálata során a PCR technikával elemzett mintákból származó eredményeket, melyek a különböző allélok előfordulási gyakoriságát mutatják az egészséges és a tumoros csoportban, az V. ill. a VI. táblázatban foglaltuk össze.

Genotípus	Tumor				Kontroll csoport
	Larynx	Hypopharynx	Mesopharynx	Összes	
<i>Ile/Ile</i>	34 (70,83 %)	31 (73,81 %)	33 (63,50 %)	98 (69,01 %)	119 (79,33 %)
<i>Ile/Val</i>	14 (29,17 %)	11 (26,19 %)	18 (34,60 %)	43 (30,29 %)	31 (20,67 %)
<i>Val/Val</i>	0 (0,00 %)	0 (0,00 %)	1 (1,90 %)	1 (0,7 %)	0 (0,0 %)

V. Táblázat

A CYP1A1 *Ile/Val* allél-polimorfizmusának megoszlása a tumoros és a kontroll csoportban

A populációban ritkább heterozigóta, ill. *Val* homozigóta genotípusok a tumoros csoportban (Össz: 30,99%, OR: 1,72, 95% CI: 1,02-2,96, $p=0,044$), ezen belül is különösen a mesopharynx tumoroknál (36,50%, OR: 2,21, 95% CI: 1,18-4,38, $p=0,022$) szignifikánsan nagyobb arányban voltak jelen, mint az egészséges kontroll csoportban (20,67%). Tehát úgy tűnik, hogy a nagyobb enzimaktivitást mutató heterozigóta és *Val* homozigóta genotípus a fej-nyak rákok kockázatát emeli.

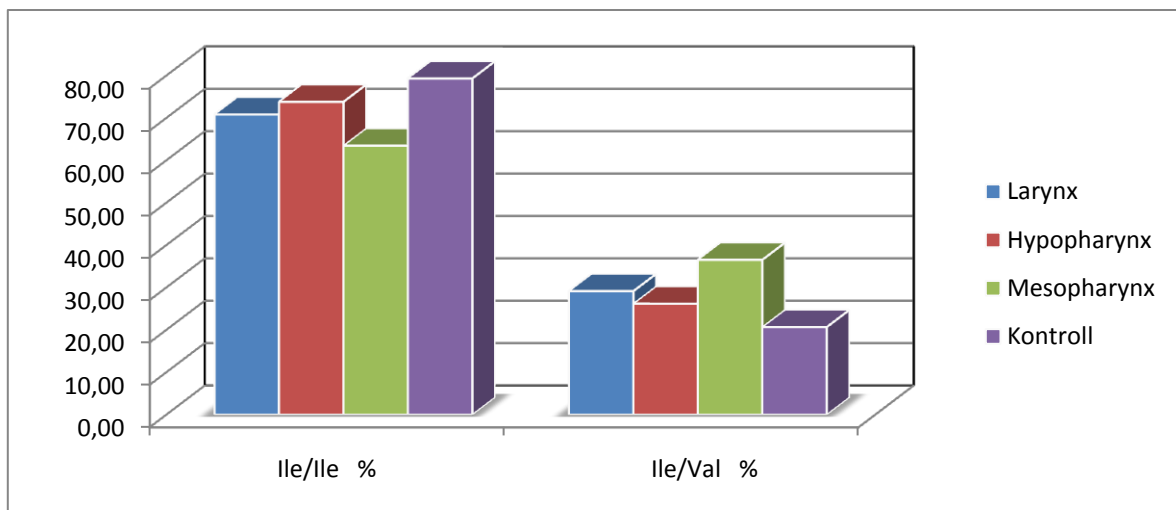
Genotípus	Tumor				Kontroll csoport
	Larynx	Hypopharynx	Mesopharynx	Összes	
TA(6)/TA(6)	17 (35,40 %)	11 (26,20 %)	20 (38,45 %)	48 (33,80 %)	64 (42,65 %)
TA(6)/TA(7)	19 (39,60 %)	19 (45,20 %)	21 (40,40 %)	59 (41,55 %)	70 (46,70 %)
TA(7)/TA(7)	12 (25,00 %)	12 (28,60 %)	11 (21,15 %)	35 (24,65 %)	16 (10,65 %)

VI. Táblázat

Az UGT1A1 allél-polimorfizmusának megoszlása a tumoros és a kontroll csoportban

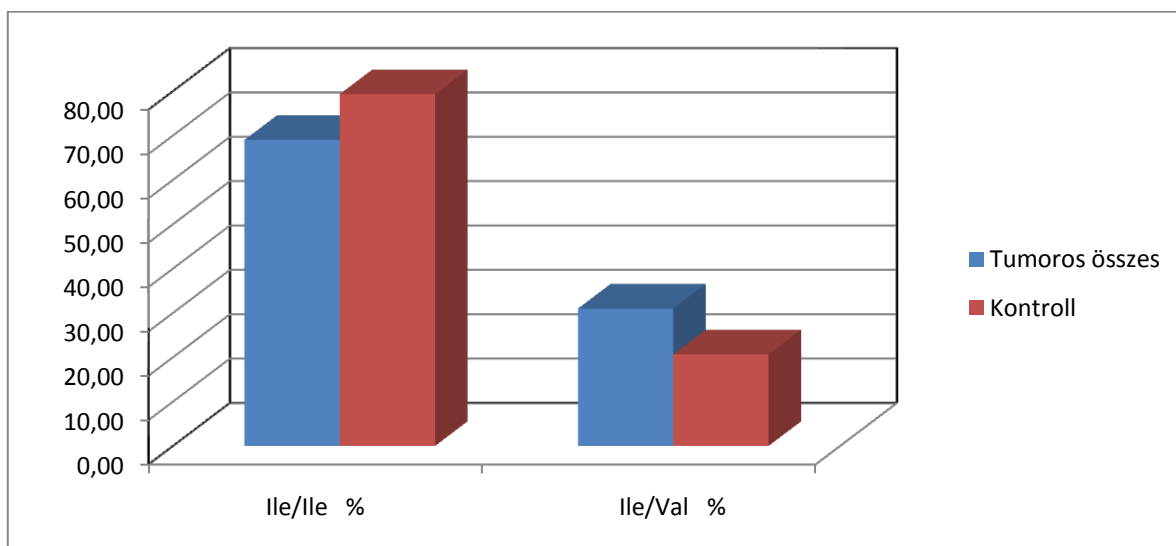
Az UGT1A1*28 allélre homozigóta [TA(7)/TA(7)] genotípus előfordulási arányánál hasonló adatokat látunk, miszerint szignifikánsan nagyobb arányban van jelen a tumoros csoportban, mint az egészségesek között. Az egészséges csoportban ez csak 10,65 %-nyi, a tumorosok közt 20-30% közötti értékek vannak. Ha összevonnuk a tumoros csoportokat, akkor nő az esetszám, s így az eltérés a két nagy létszámú csoport közt (tumoros és egészséges populáció) már szignifikánsnak bizonyul: az egészséges csoportban az UGT1A1*28 allélre homozigóta betegek előfordulása szignifikánsan kisebb (OR: 2.74, 95% CI: 1.45-5.18, $p=0.002$). Eredményeink alapján a fej-nyaki tumorok kialakulására kockázatonővelő hatással bír az UGT1A1*28 allélre homozigóta genotípus.

A CYP1A1 genotípusok gyakorisága %-ban megadva, a tumorok lokalizációja szerint bontva a 7. ábrán, a tumoros és egészséges csoport közti különbség a 8. ábrán látható. A Val allélre homozigóta genotípust, nagyon alacsony előfordulása miatt, a heterozigóta genotípussal együtt kezeltük. Az UGT1A1 genotípusokat hasonlóan demonstrálva a 9. és az 10. ábra szemlélteti. Az ábrák alapjául a V. és VI. táblázat adatai szolgáltak.



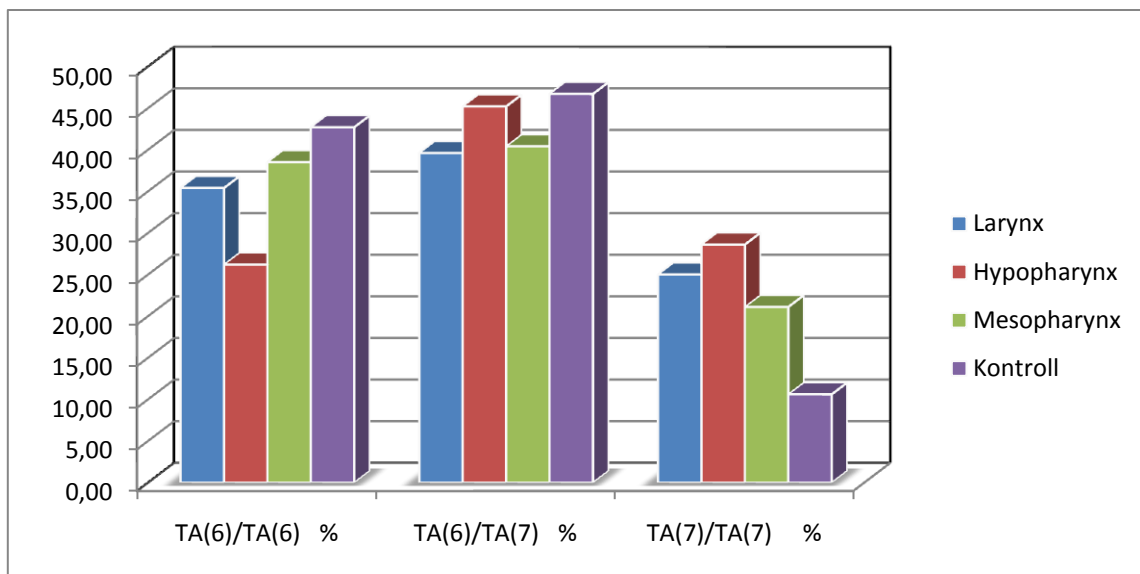
7. ábra

A CYP1A1 genotípusok gyakorisága a különböző tumoros és kontroll csoportokban



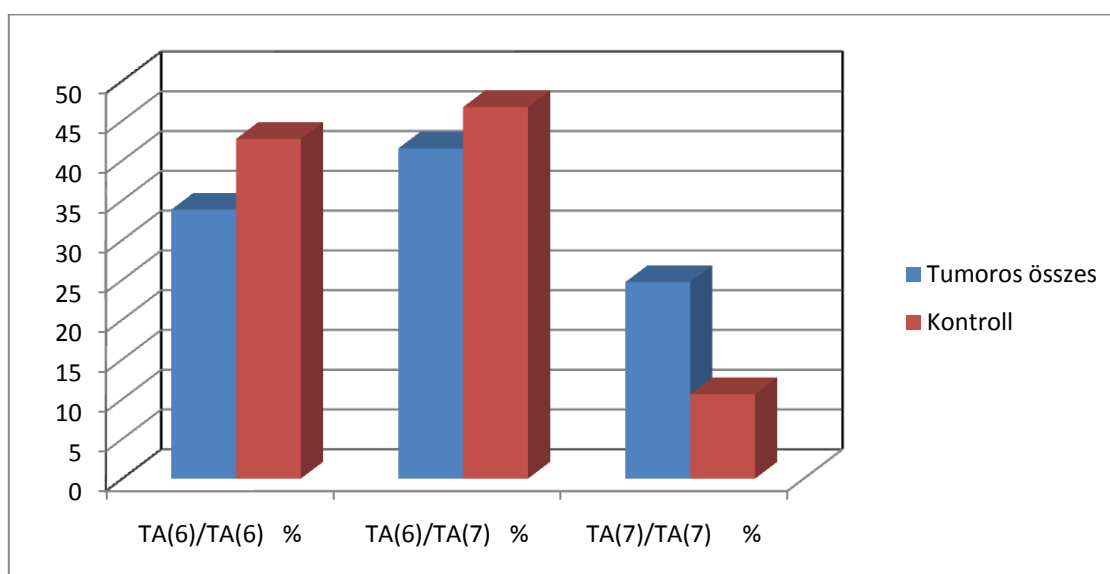
8. ábra

A CYP1A1 genotípusok gyakorisága a tumoros és a kontroll csoportban



9. ábra

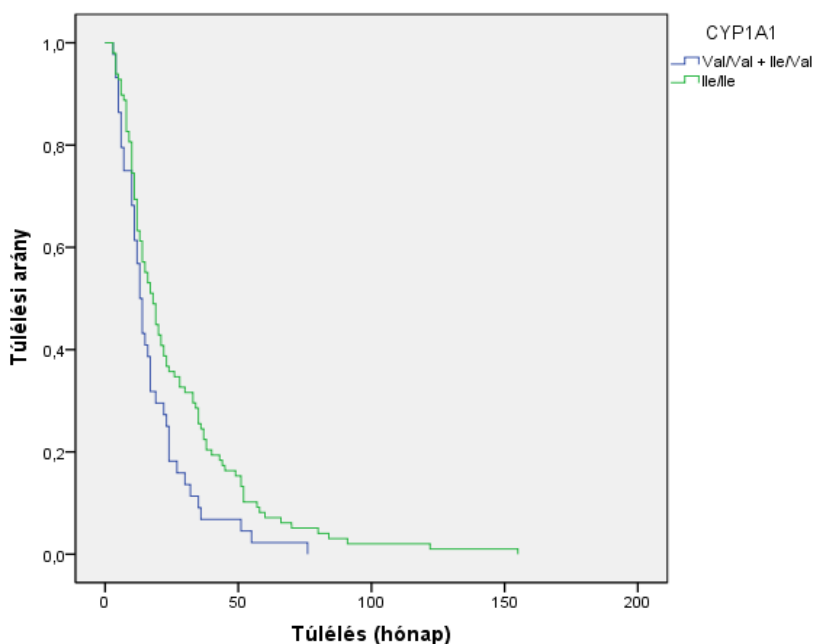
Az UGT1A1 gén promóter régió háromféle genotípusának gyakorisága a különböző tumoros és kontroll csoportokban



10. ábra

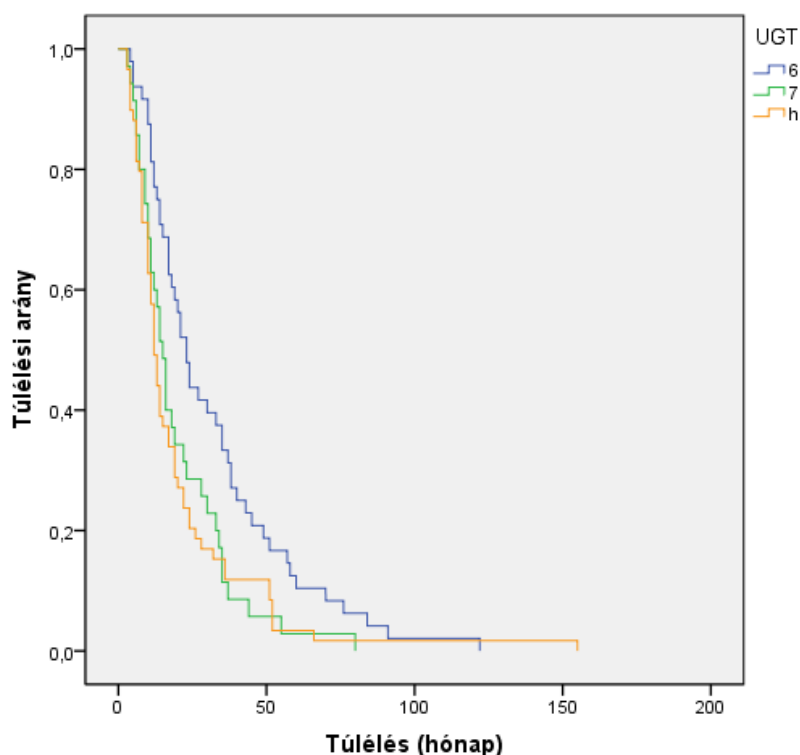
Az UGT1A1 gén promóter régió háromféle genotípusának gyakorisága a tumoros és a kontroll csoportban.

A másik kérdés, melyre választ kerestünk, hogy van-e befolyása a CYP1A1 és az UGT1A1 genetikai polimorfizmusának a tumoros betegek túlélésére. A teljes betegcsoportban a CYP1A1 Ile/Val allélvariánsok és az UGT1A1 promóter régió genotípusa szerinti túlélési görbéket a 11. ill. 12. ábrán szemléltetjük. A CYP1A1 esetén a leghosszabb átlagos túléléseket az *Ile* allélre homozigóta személyeknél látjuk (26,69 hónap), a heterozigóta betegek átlagos túlélése szignifikánsan rosszabb (18,02 hónap, $p=0,018$), az egyetlen *Val* allélre homozigóta beteg átlagos túlélése a legrosszabb: 11 hónap. Az UGT1A1 vizsgálatánál az átlagos túléléseket tekintve a vad típusú (UGT1A1*1) allélre homozigóta egyének túlélése a leghosszabb, 31,6 hónap, az UGT1A1*28 allélre homozigóta páciensek átlagos túlélése 20,2 hónap, ami alig tér el a heterozigóta betegek túlélésétől (19,9 hónap). A vad típusú allélre homozigóta csoport túlélése szignifikánsan hosszabb a heterozigóta csoporténál ($p=0,009$), és a homozigóta UGT1A1*28 egyénénél ($p=0,006$). A heterozigóta és a nem vad típusú homozigóta csoportok közti különbség nem szignifikáns ($p=0,727$).



11. ábra

Fej-nyak tumorok túlélési görbéi a CYP1A1 *Ile/Val* allél-polimorfizmusa szerint



12. ábra

Fej-nyak tumorok túlélési görbéi az UGT1A1 promóter régiójának genotípusai szerint

A különböző genotípusok túlélésekre gyakorolt hatását a tumorok lokalizációja szerint is megvizsgáltuk, melyet a VII. és a VIII. táblázat demonstrál.

A CYP1A1 esetén a különböző tumoros csoportokban az *Ile* allélre homozigóták túlélése nem volt szignifikánsan hosszabb a heterozigóta és *Val* allélre homozigóta betegeknél (gégetumorknál $p=0,422$, mesopharynx tumoroknál $p=0,234$). A legnagyobb eltérést a hypopharynx tumoroknál látjuk ($p=0,109$). Az UGT1A1 esetén a gége- és hypopharynx tumoros csoportokat tekintve a vad allélre homozigóta betegek túlélése a legjobb. A heterozigóták átlagos túlélése a legrosszabb, míg a mesopharynx daganatos csoport elkülönül, itt a heterozigóták és az UGT1A1*1 homozigóták túlélése közel megegyezik, és az UGT1A1*28 variánsra homozigóta páciensek túlélése volt a legrosszabb. A mesopharynx és a hypopharynx tumoros csoportban a vad és a mutáns (UGT1A1*28) homozigóta csoport túlélése szignifikánsan különböző ($p=0,029$ ill. $p=0,009$). A hypopharynx csoportban a

heterozigóták túlélése is szignifikánsan eltér a homozigóta vad genotípusétól ($p=0,005$). A gégerákos csoportnál is van szignifikáns eltérés a túlélések között: a heterozigóta populáció túlélése szignifikánsan eltér az UGT1A1*1-re homozigótákétól ($p=0,007$).

Végül vizsgáltuk betegcsoportunkban, hogy a két high-risk allél (CYP1A1 *Ile/Val* + UGT1A1*28) együttes hordozása hogyan befolyásolja a túlélést. Eredményeinket az IX. táblázatban, ill. a 13. ábrán szemléltetjük. Összesen a 142 betegből 29 beteg hordozta mindkét high-risk allélt. Átlagos túlélésük 14,62 hónap volt, szignifikánsabb kisebb a csak egy, vagy egy high-risk allélt sem hordozókénál 26,35 hónap túléléssel (OR:2,149, 95% CI: 1.111-4,157, $p: 0,001$).

Tumor	CYP1A1	N (esetszám)	Átlag (hónapok)	SD
Larynx	<i>Ile/Ile</i>	34	29,53	21,16
	<i>Ile/Val</i>	14	9,74	20,52
	<i>Val /Val</i>	0	-	-
	Összes	48	27,81	20,931
Hypopharynx	<i>Ile/Ile</i>	31	28,42	26,34
	<i>Ile/Val</i>	11	17,18	9,59
	<i>Val /Val</i>	0	-	-
	Összes	42	23,74	23,560
Mesopharynx	<i>Ile/Ile</i>	33	22,15	28,38
	<i>Ile/Val</i>	18	14,17	11,36
	<i>Val /Val</i>	1	11,00	-
	Összes	52	19,17	23,752

VII. táblázat

A CYP1A1 *Ile/Val* allél-polimorfizmus genotípusainak az átlagos túlélési időkre (hónapok) gyakorolt hatása tumor lokalizáció szerint

Tumor	UGT1A1	N (esetszám)	Átlag (hónapok)	SD
Larynx	UGT1A1*1	17	39,06	22,966
	UGT1A1*28	12	21,92	13,276
	Heterozigóta	19	21,47	19,554
	Összes	48	27,81	20,931
Hypopharynx	UGT1A1*1	11	40,91	34,915
	UGT1A1*28	12	27,42	20,611
	Heterozigóta	19	15,32	8,393
	Összes	42	25,48	23,560
Mesopharynx	UGT1A1*1	20	20,20	15,707
	UGT1A1*28	11	10,45	8,548
	Heterozigóta	21	22,76	33,336
	Összes	52	19,17	23,752

VIII. táblázat

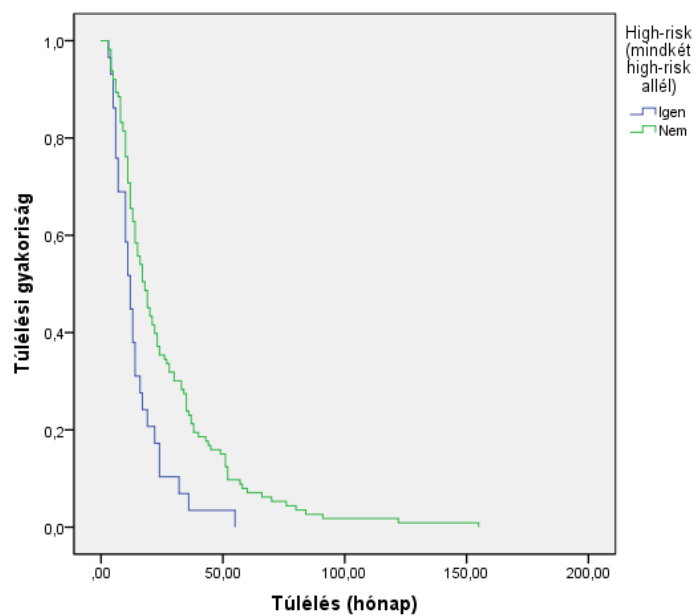
Az UGT1A1 genotípusok az átlagos túlélési időkre (hónapok) gyakorolt hatása tumor lokalizáció szerint

		Beteg		Összes
		Beteg	Kontroll	
Mindkét high-risk allél	Igen	29	16	45
	Nem	113	134	247
Összesen		142	150	292

Mindkét high-risk allél	Átlag	95% CI
Igen	14,621	10,535-18,707
Nem	26,354	21,830-30,878
Összesen	23,958	20,187-27,729

IX. táblázat

A két high-risk allélt hordozók versus az egy, vagy high-risk allélt nem hordozók átlagos túlélése hónapokban

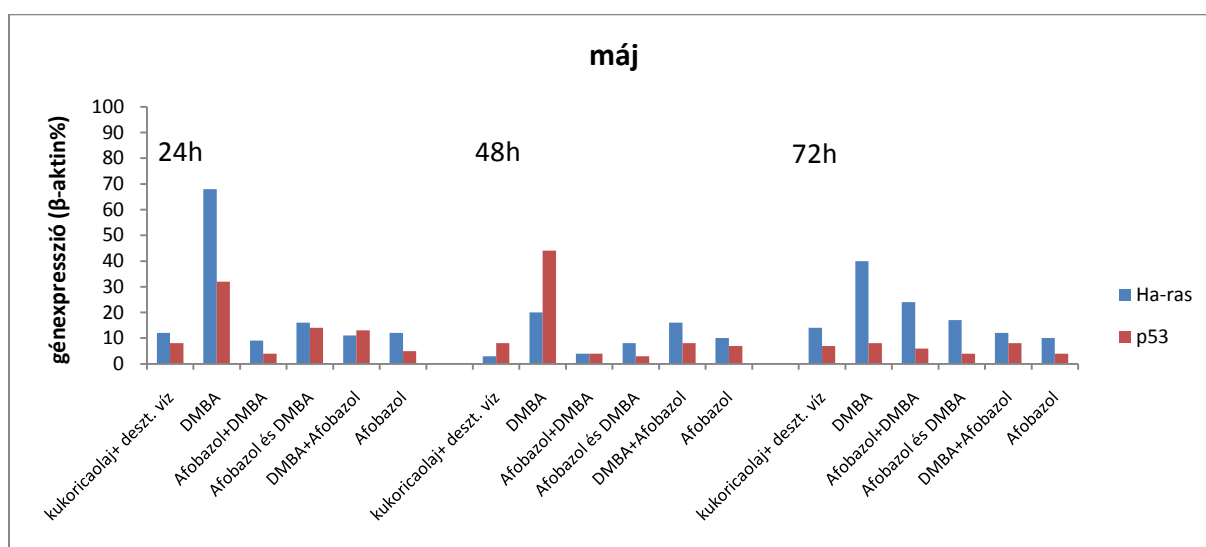


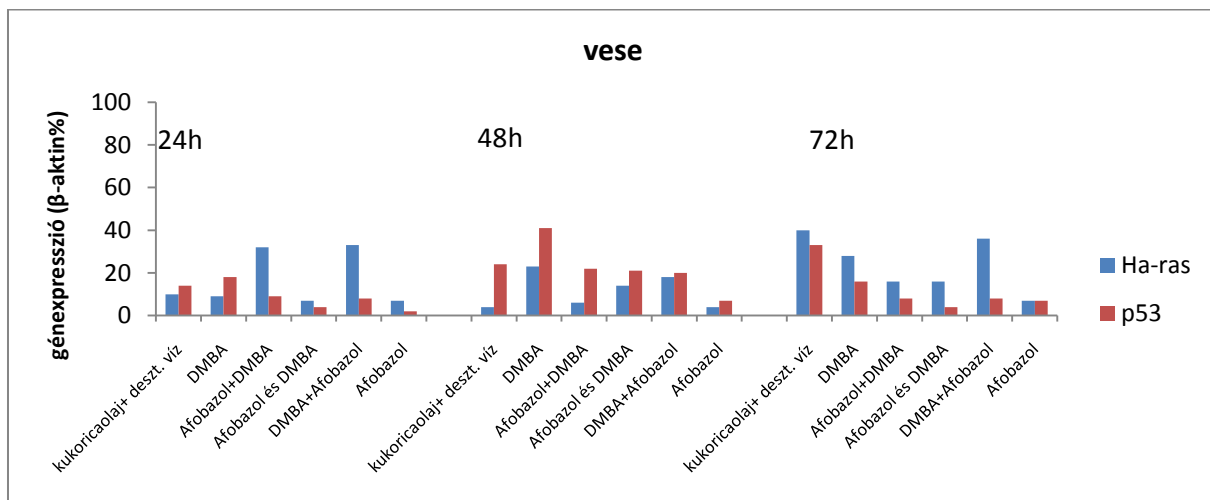
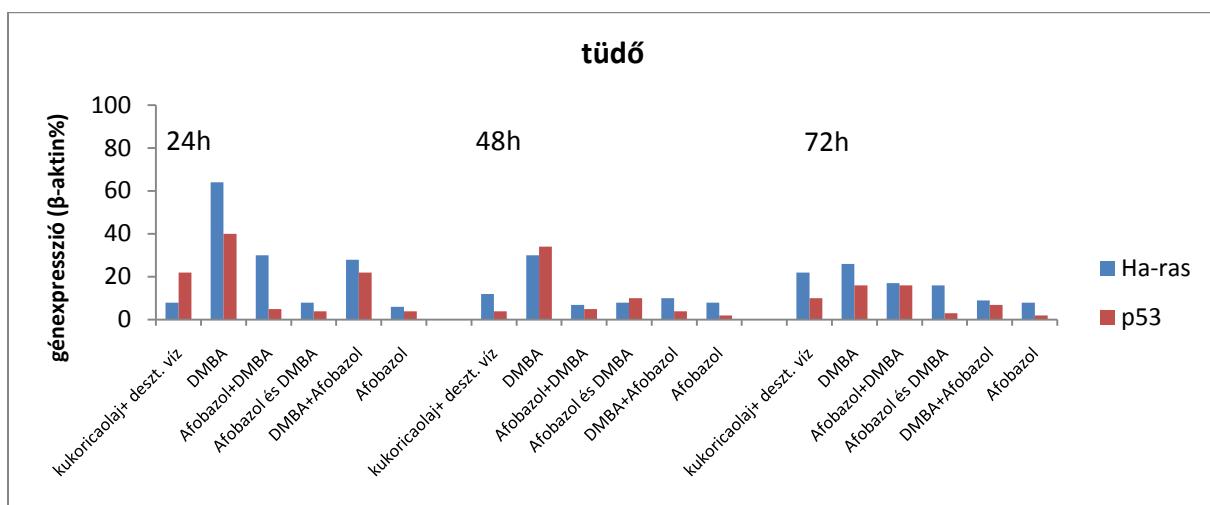
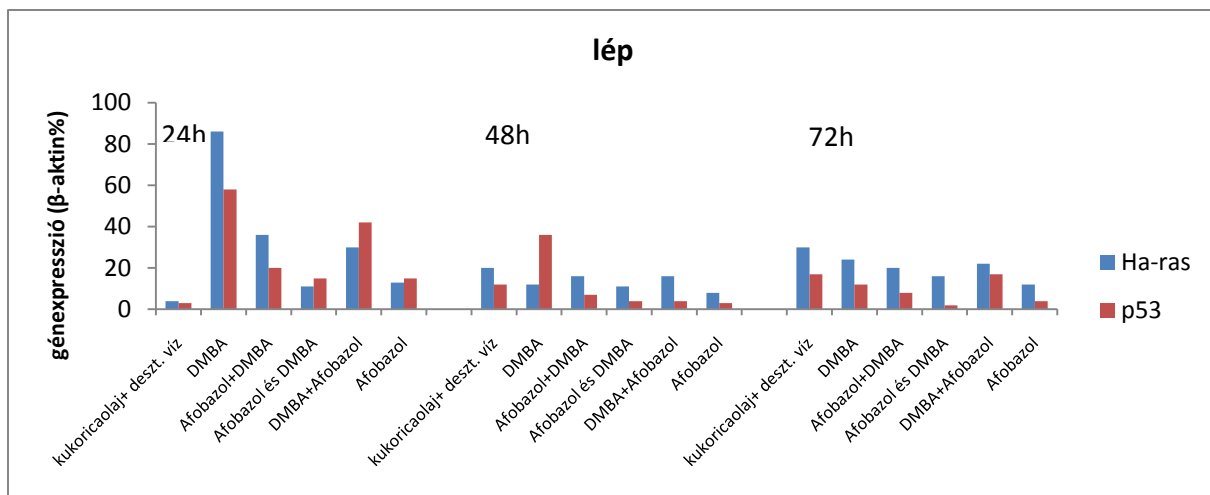
13. ábra

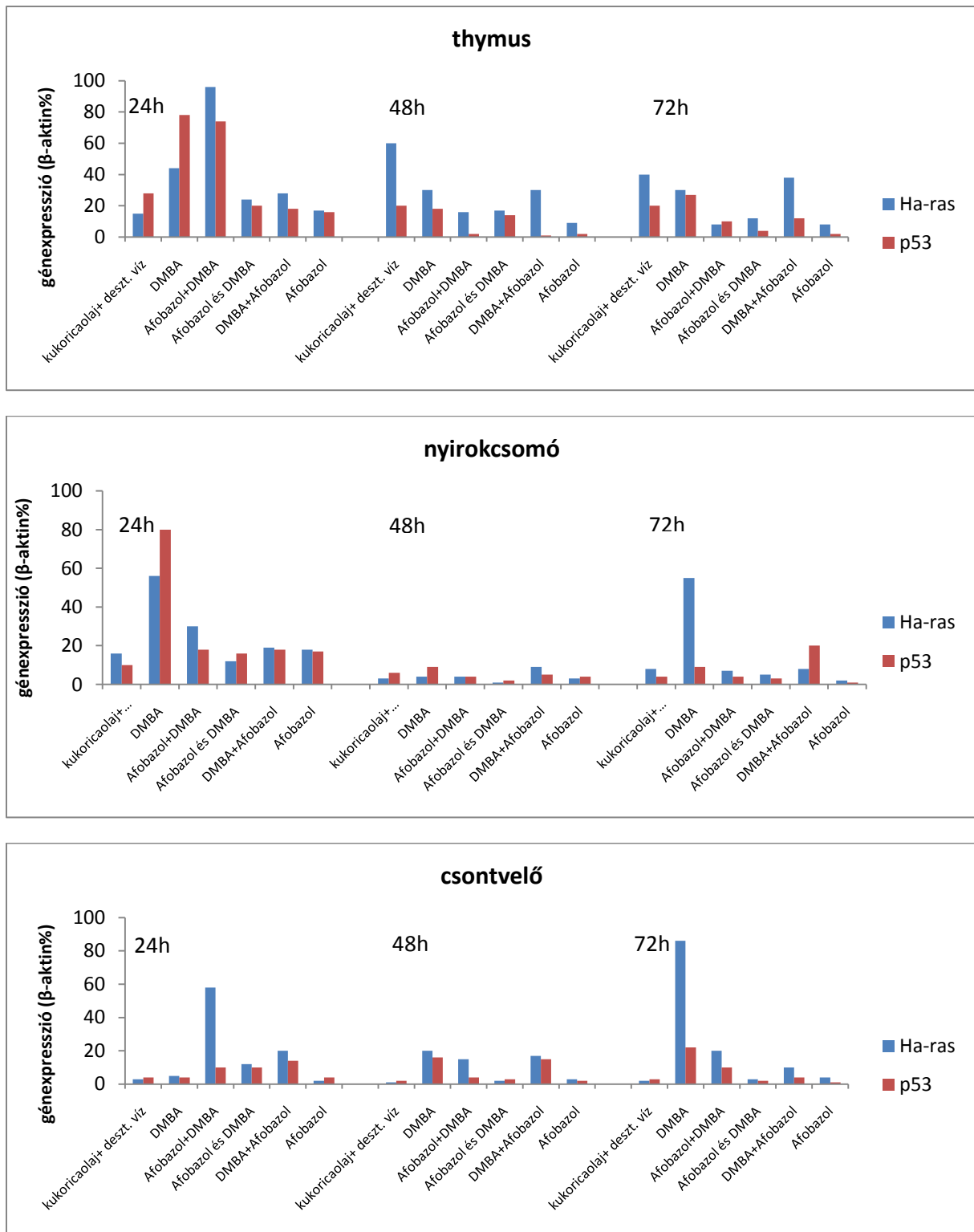
A két high-risk allél együttes hordozásának hatása a túlélésre

IV.3. Az afobazole in vivo kemopreventív hatásának vizsgálatának eredménye

Az afobazol in vivo kemopreventív hatásának vizsgálata kapcsán a DMBA megnövelte a *Ha-ras* és a *p53* expresszióját a májban, a lépben, a tüdőben, a nyirokcsomókban és a csontvelőben (14. ábra). Az afobazol önmagában adva nem befolyásolta a gének expresszióját. Az afobazol a DMBA-val együtt adva csökkentette a DMBA indukálta overexpressziót mind a *Ha-ras*, mind a *p53* esetén. A DMBA indukálta génexpresszió leginkább akkor csökkent, amikor az afobazolt egy időben adtuk a DMBA-val, így mindkét gén expressziója valamennyi szövetben csökkent. Az afobazolt a DMBA kezelés után 24 órával adva a DMBA indukálta *Ha-ras* és *p53* expresszió csökkent a májban, a lépben, a tüdőben, a thymusban és a nyirokcsomókban. Az afobazolt a DMBA kezelés előtt 24 órával adva a DMBA indukálta *Ha-ras* és *p53* expresszió csökkent a májban, a lépben, a tüdőben és a nyirokcsomókban, de nem volt hatással az expressziók szintjére a vesében, a thymusban és a csontvelőben. A DMBA indukálta génexpresszió további csökkenését tapasztaltuk 48 óra után négy szövetben: a májban, a lépben, a tüdőben és a nyirokcsomókban. Kisebb génexpresszió növekedés volt megfigyelhető mindkét gén esetében a kezelés után 72 órával. Ez az afobazol idő-dependens hatásával magyarázható.







14.ábra

Ha-ras and *p53* génexpresszió növekedése egérben 24, 48, 72 órával a DMBA és afobazol adását követően a kontroll anyagokkal összehasonlítva. (Afobazol +DMBA: afobazol kezelés 24 órával a DMBA előtt; Afobazol és DMBA: afobazol kezelés egyidőben a DMBA-val; DMBA+Afobazol: afobazol kezelés 24 órával a DMBA után; kukorica olaj+desztillált víz, DMBA és afobazol önmagában, mint kontroll adva)

V. Megbeszélés

A modern és naprakész diagnosztikus eljárások és kezelési lehetőségek ellenére a fej-nyaki tumoros betegek túlélési aránya továbbra is kedvezőtlen. Az 5 éves túlélés a definitív diagnózistól számítva kevesebb, mint 50 %, de bizonyos típusú daganatoknál csupán mindössze 25 %. Habár a gyakran alkalmazott képalkotó vizsgálatok, mint például az UH, CT, MRI, valamint a szövettani értékelés korai diagnózishoz segítenek, alkalmazásukkal csak manifeszt tumorok detektálhatók. A modern diagnosztikus és therápiás lehetőségek ellenére romló mortalitási adatokat mutató, fej-nyak rákokkal kapcsolatos hazai és nemzetközi statisztikai felmérések tükrében a prevenció egyre több országban a kutatások fókuszába került. Molekuláris biológiai markerek alkalmazásával az expozíció és a daganat kialakulásának korai jelei már jóval korábban, még a fenotípusos változások előtt kimutathatók. Hangsúlyoznunk kell, hogy a molekuláris biológiai markerek segítségével történő tumorkimutatás rendszeres szűrést igényelne.

Az onkogének és tumorsuppresszor gének expressziójának elemzése -karcinogenezisben játszott fontos szerepük miatt - megfelelő eljárásnak tűnik a karcinogén expozíció korai felismerésére.

A vizsgált gének fontos szerepet játszanak a karcinogenezisben; a *Ha-ras* gén a karcinogenezis iniciációjában, a *p53* gén a DNS károsodásra adott válaszban vesz részt. A *c-myc* onkogén a proliferációra és az immortalizációs folyamatokra fejti ki hatását (20, 23, 24, 52). Előzetes állatkísérleteink azt mutatták, hogy ezen onkogének és tumorsuppresszor gének expressziós mintái a célszervekben és a perifériás fehérvérsejtekben a kémiai karcinogenezis megfelelő biomarkerei (53, 54, 55, 56, 57, 58). Ezen gének szignifikánsan fokozott expresszióját mutatták ki expozíciónak kitett, nyilvánvaló tumortól mentes, valamint különböző típusú daganatokban (agydaganat, pancreas tumor és papilláris pajzsmirigy daganat) szenvedő betegekben, mely a géneknek korai biológiai válaszok biomarkereiként való használhatóságukat sugallja (19, 57, 59, 60, 61). Számos onkogén és tumorsuppresszor gén (*Ha-ras*, *Ki-ras*, *Ki-67*, *C-myc*, *ErbB-1*, *EGRF*, *cyclin-D1*, *C-met*, *SNA12/SLUG* és *p53*) fokozott expresszióját bizonyították már a malignus fej-nyaki daganatok kialakulásának hátterében (62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73). A *p14* és *p16* proteinek inaktivációja szintén fontos szerepet játszik a malignus fej-nyaki daganatok

kialakulásában (74, 75).

Vizsgálatunk a malignus fej-nyaki daganatos betegek perifériás fehérvérsejtjeiből származó RNS-en mért *Ha-ras* és *c-myc* onkogének, valamint a *p53* tumorszuppresszor gén fokozott expresszióját igazolta.

Ez az első értekezés malignus gége-garat tumorok monitorozására perifériás fehérvérsejtből nyert RNS-nek mint biomarkernek a felhasználásával. Eredményeink világosan mutatják, hogy a *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziója a malignus fej-nyaki tumorokban szenvedő betegeknél szignifikánsan magasabbak, mint a kontrollcsoportban.

A daganatos betegekben kimutatott onkogének fokozott expressziójának általánosságban legalább két magyarázata van:

- (a) kémiai karcinogének vagy a tumor jelenléte által indukált egyéb molekuláris változások (messenger molekulák, gyulladásos mediátorok vagy metabolikus termékek) direkt hatása a perifériás fehérvérsejtek nukleinsavjára, vagy
- (b) az izolált RNS származhat a keringő tumorsejtekből, nyilvánvalóan mutatva a vizsgált gének fokozott expresszióját.

A definitív kezelést követően azon betegeknél, akiknél nem alakult ki recidíva, csökkent *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* expresszió mutatkozott, az egyetlen tumor recidíva viszont emelkedett expressziós szintekkel járt együtt.

A tumor klinikai megjelenését a vizsgált gének emelkedett expressziója feltehetően ebben a csoportban is megelőzte, ahogy ez más tumoros csoportoknál is igazolódott szűrővizsgálatok segítségével (19). *Ember* és *mtsa*-i malignus tumorok (főként emlődaganatok) halmozott előfordulásáról számoltak be olyan laboratóriumban dolgozók körében, ahol etilén-oxidot használtak: szűrővizsgálatok azt mutatták, hogy a manifeszt betegséget az onkogén és tumorszuppresszor gének emelkedett expressziója előzte meg (19). Hasonlóképpen mi is azt feltételezzük, hogy a vizsgált gének fokozott expressziója rávilágíthat a malignus fej-nyaki daganatok fokozott rizikójára. Egy szélesebb populáció rendszeres szűrésének bevezetése lenne ahhoz szükséges, hogy ezek a feltételezések bebizonyosodhassanak.

Úgy tartjuk, hogy a *c-myc*, *Ha-ras* onkogének és a *p53* szuppresszor gén expresszióját célzó szűrővizsgálatok „cost-benefit” szempontjából szükségtelenek, mivel a fej-nyaki tumorok nehézség nélkül diagnosztizálhatók korai stádiumban; az a szomorú tény, hogy a legtöbb

beteg számára a definitív terápia már előrehaladott stádiumban történik, köszönhető inkább a betegek indolenciájának mintsem a diagnosztikus nehézségeknek.

A fent részletezett eljárás ígéretes eszközként szolgálhat azonban a definitív terápia utáni tumor recidíva korai kimutatására vagy előre jelzésére, jóval a klinikailag manifeszt folyamat megjelenése előtt (tercier prevenció).

A *Ha-ras*, *c-myc* és *p53* gének in vivo expresszió vizsgálatának fontosságára korábban már rávilágítottak *Ember* és *mtsa-i*, akik citosztatikus szerek terápiás hatását monitorozták hematológiai betegségekben (76).

Jelen értekezésben a *Ha-ras* és *c-myc* onkogének, valamint a *p53* tumorszuppresszor gén over-expresszióját mutattuk ki fej-nyaki tumoros betegek fehérvérsejtjeiből nyert RNS mintákon. Rámutattunk, hogy a definitív kezelést követően a recidívával nem rendelkező betegeknél csökkent a *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziója, míg a tanulmányban szereplő egyedüli recidív esetben fokozott volt az expresszió. A leírt eljárás hasznos lehet a definitív terápia után kialakuló, klinikailag még tünetmentes tumor recidívák felismerésére. Eredményeink jelen esetszám mellett csak figyelemfelkeltőek. A vizsgált génexpressziós változások biomarkerként való alkalmazásához további, nagyobb elemszámú vizsgálatok szükségesek.

A daganatkialakulás kockázati tényezője lehet exogén, pl. foglalkozási vagy környezeti karcinogén expozíció, azonban endogén, genetikai tényezők is befolyásolják a tumor létrejöttét. Több magas penetranciájú, pl. örökletes genetikai faktort ismerünk, de az alacsony penetranciájú genetikai tényezők még kevésbé ismertek. Az alacsony penetranciájú genetikai tényezők csoportjába tartoznak a környezeti karcinogéneket detoxifikáló, metabolikus enzimek polimorfizmusai. Jelen tanulmányban a CYP1A1 I-es fázisú és az UGT1A1 II-es fázisú metabolikus enzimek allél-polimorfizmusának fej-nyak rákok kockázat- és túlélését befolyásoló szerepét vizsgáltuk.

A CYP1A1 gén a P450 enzimrendszerhez tartozó, I-es fázisú metabolizáló enzim és terméke, az aril-hidrokarbon-hidroxiláz (AHH) alakítja aktív, a DNS-hez kötődni képes karcinogénné a szervezetbe prokarcinogén formájában bejutott policiklusos aromás szénhidrogéneket. A cigarettafüstben, kipufogógázban, és egyéb égési folyamatok melléktermékeként előforduló benzpirén az enzim egyik legismertebb szubsztrátja. Az aktív carcinogén detoxifikálását végző II-es fázisú enzim az UGT1A1. Az UGT1A1 a biotranszformáció második fázisát, a

glukuronidációt katalizálja, és toxikus anyagok, mint pl. a benzpirén-diol-epoxid eliminálását végzi. Fenti enzimek aktivitásának megváltozása a fej-nyak rákok kialakulására jelentős hatással lehet. Aktivitásukat leginkább kódoló génjeik allél-polimorfizmusa változtathatja meg (77,78).

A CYP1A1 enzim *Isoleucin/Valin (Ile/Val)* allél-polimorfizmusa jól ismert, ahol a homozigóta *Val*, illetve a heterozigóta (*Ile/Val*) enzim AHH aktivitása nagyobb, mint a homozigóta *Ile*-enzimé (79, 80). Ez a karcinogének gyorsabb, fokozottabb metabolikus aktivációját eredményezi. Az UGT1A1 enzim génjének sok genetikai variációja ismert, ezek közül is kiemelendő az UGT1A1*28, mely számos betegség létrejöttében szerepet játszik, és csak a vad allél (UGT1A1*1) expressziós aktivitásának harmadával rendelkezik, gyengébb karcinogén inaktivációs tevékenységgel.

A CYP1A1 egyike a leggyakrabban vizsgált géneknek, amelyeknek kockázatbefolyásoló szerepét különböző malignus daganatok kialakulásában és különböző etnikai csoportokban tanulmányozták. Különböző allél-polimorfizmusait rizikófaktoroként írták le tüdő és colon tumoroknál, japán populációban (81, 82, 83), szoros kapcsolatot találtak CYP1A1 allélpolimorfizmus és emlő tumorok megjelenése között afro-amerikai etnikumban (84). Allél-polimorfizmusának, mint rizikófaktoraként, malignus fej-nyaki daganatokra gyakorolt hatásáról szintén számos közlemény született (85). Az eredmények - miszerint a CYP1A1 allélpolimorfizmusa növeli a malignus fej-nyaki daganatok kialakulásának rizikóját-, megegyezők voltak Hahn és munkacsoportja által a kaukázusi csoportban végzett tanulmányban (86) és Hashibe metaanalízisében (87), bár az indiai és japán populációban a tanulmányok szerint a CYP1A1 polimorfizmus inkább a szájüregi tumorok rizikóját növeli. (88, 89, 90). Viszonylag kevés közlemény vizsgálta a CYP1A1 *Ile/Val* allél-polimorfizmusát. Kaukázusi populációban az *Ile/Val* heterozigóta genotípus van jelen nagyobb arányban fej-nyaki rákoknál (91) és szinte alig fordul elő a *Val/Val* homozigóta genotípus (35, 36, 92). Tanulmányunkban CYP1A1 *Ile/Val* allél-polimorfizmust vizsgálva hasonló eredményeket kaptunk. A heterozigóta variáns tumoros csoportunk 30,29%-át adta, míg az egészséges csoportban 20,67 %-ban volt jelen, a 142 fős tumoros csoportunkból 1 beteg genotípusa volt csak *Val/val* homozigóta (0,7%). Ezzel ellentétben a CYP1A1 *Val/Val* genotípus megemelkedett arányát találták japán fej-nyak rákos betegek között, főként garattumoroknál (90). Tanulmányunkban a fej-nyaki tumorok kialakulásának kockázatát

emelő, nagyobb enzimaktivitást mutató, a populációban ritkább heterozigóta, ill. *Val* homozigóta genotípusok a tumoros csoportban (Össz: 30,99%), ezen belül is a mesopharynx tumoroknál (36.50%) szignifikánsan nagyobb arányban voltak jelen, mint az egészséges kontroll csoportban (20,67%), így kijelenthetjük, hogy a CYP1A1 *Ile/Val*, ill. *Val/Val* allél-polimorfizmusa rizikó tényezőként fogható fel a fej-nyaki tumorok kialakulásában hasonlóan más tanulmányokhoz (93, 94).

A CYP1A1 *Ile/Val* allél-polimorfizmusnak fej-nyaki tumorok prognózisára, túlélésére gyakorolt hatását ezidáig azonban még nem vizsgálták. Tanulmányunkban tumoros betegeink túlélési idejét ismerve, azokkal összevetve vizsgáltuk meg az egyes genotípusok túlélésre gyakorolt hatását. Elvárásainknak megfelelően az egyes genotípusok enzimaktivitásával megegyezően a leghosszabb átlagos túléléseket az *Ile/Ile* allélre homozigóta egyéneknek látjuk, a heterozigóta betegek átlagos túlélése szignifikánsan rosszabb ($p=0,018$). Az eredmények alapján kijelenthető, hogy a ritkább előfordulású, de metabolikusan aktívabb CYP1A1 *Ile/Val*, ill. *Val/Val* genotípusok a fej-nyak rákok túlélését rontják. Tumorlokalizáció szerint vizsgálva mindhárom tumoros csoportban szignifikánsan kisebb az *Ile/Val* és a *Val/Val* genotípusú egyének túlélése az *Ile* allélre homozigóta genotípusokénál. A legnagyobb eltérést a hypopharynx tumoroknál látjuk.

Tanulmányunk második felében a II-es fázisú UGT1A1 gén allél-polimorfizmusát vizsgáltuk. A CYP1A1 génnel ellentétben az UGT1A1 gén irodalma jóval kisebb. A vad allél (UGT1A1*1) expressziós aktivitásának harmadával rendelkező UGT1A1*28 variáns hatását a gén kifejeződésére azonban szintén számos betegség esetén vizsgálták. Gilbert-kórban már régóta ismert, hogy ez a genetikai variáns játszik szerepet a betegségben. A csökkent enzimképződés miatt a hemoglobinnál származó bilirubin endogén szubsztrátjainak lebontása csökken magasabb bilirubin szintet eredményezve (40). A Crigler-Najjar betegség különböző formáit szintén az UGT enzim csökkent termelődése vagy hiánya váltja ki.

Számos publikáció jelent meg az UGT1A1 genetikai polimorfizmusának hatásáról a metasztatikus colorectalis carcinómák kezelésében használt irinotecan toxicitásra. Ez a kemoterápiás anyag a betegek egy részében egyéni érzékenységtől függően súlyos toxikus hematológiai és gastrointestinális mellékhatásokat vált ki. Az aktív szer detoxifikálását az

UGT1A1 végzi, melynek csökkent enzimszintje esetén a toxicitás és így a kockázat megsokszorozódik.(95, 96, 38, 39) Az UGT1A1*28 részt vesz a szexuáliszteroidok katabolizmusában, ennek révén az ösztrogén-negatív emlődaganatokban befolyásolja a kockázatot (97). Régebb óta ismert tény, hogy az afro-amerikai nőkben fokozza a mellrák kialakulásának esélyét (97).

Jelen tanulmányunkban malignus fej-nyaki tumoroknál az UGT1A1 gén promóter régió allél-polimorfizmusát, mint kockázati tényezőt, valamint túlélést befolyásoló szerepét vizsgáltuk. Fej-nyak rákok vonatkozásában az UGT1A1 genetikai polimorfizmusával kapcsolatban eddig egy közlemény jelent meg. Martin és munkacsoportja tanulmányukban arra a kérdésre kerestek választ, hogy a csökkent enzim aktivitást okozó UGT1A1*28 allélnak van-e kockázatot befolyásoló hatása a fej-nyaki tumorok carcinogenezisére. Az előzetes feltételezéssel ellentétben szignifikáns kapcsolatot találtak az UGT1A1*1 allélre homozigóta genotípus gyakorisága és a fej-nyaki daganatok kockázatának növekedése között. Ennek alapján a vad típusú allél jelentett kockázati tényezőt, míg a kaukázusi populáció 5-15%-ában jelen levő UGT1A1*28 allél védőfaktorként csökkentette a kockázatot. A vizsgálat során a vártakkal ellentétes eredményeket kaptak, amit a bilirubin antioxidáns védő szerepével magyaráztak. Eszerint az UGT1A1 enzim katalizálja az endogén bilirubin elbontását is, így a csökkent expressziójú UGT1A1*28 allélel rendelkező genotípusban a bilirubin szintje magasabb, mint a vad allélel rendelkező populációban, így a bilirubin protektív hatása jobban érvényesül. (98)

Amennyiben a biotranszformáció II-es fázisban résztvevő UGT1A1 enzim aktivitása, s így karcinogén detoxifikáló képessége csökken, kézenfekvőnek tűnik, hogy a tumorkialakulás kockázata nő. Tanulmányunkban, Martin eredményeivel ellentétben a teljes tumoros csoportot tekintve a csökkent enzimaktivitással és ezáltal gyengébb karcinogén inaktivitással rendelkező UGT1A1*28 allélre homozigóta betegek előfordulása szignifikánsan nagyobb volt (24,65%) az egészséges csoporthoz képest (10,65%) ($p=0,002$). Ennek alapján kijelenthetjük, hogy az UGT1A1*28 kockázati tényezőként hat a fej-nyaki daganatok kialakulására.

A túléléseket elemezve megállapítottuk, hogy a homozigóta vad genotípus túlélése a leghosszabb, az UGT1A1*28-ra homozigóta és heterozigóta páciensek túlélése szignifikánsan

rövidebb. Ezen eredmények szerint az UGT1A1*28 allél negatív irányban befolyásolja a túlélést.

Az UGT1A1*28 allél fej- nyaki daganatok kialakulására való hajlamosítása mértékének pontosabb becsléséhez további, több tényezőre kiterjedő, és nagyobb elemszámú vizsgálatok szükségesek.

A fentiek tükrében kijelenthető, hogy az általunk vizsgált UGT1A1 allélpolimorfizmusnak prognosztikus értéke van, mivel a genotípus szignifikánsan befolyásolja a túlélést. Önálló prognosztikus markerként való alkalmazása segítséget nyújthat az egyén fej- nyaki daganatos megbetegedésre való hajlamának felmérésében.

A két un. high-risk allél (CYP1A1 *Ile/Val*, UGT1A1*28) túlélésre gyakorolt hatásának ismeretében kézenfekvő volt, hogy megvizsgáljuk a két allél együttes hordozása milyen mértékben változtatja meg a túlélést. Előzetes feltételezéseinknek megfelelően szignifikánsan kisebb átlagos túlélése volt a két allélt egyszerre hordozó betegeknek, összehasonlítva a csak egy, vagy high risk alléllal nem rendelkezőkkel. Ez az eredmény is megerősíti a két metabolikus enzim szoros együttműködését, hiszen a két high-risk allél együttes hordozása a túlélést tovább rontja.

Összegzésként elmondható, hogy kísérletünkben szignifikáns összefüggést találtunk a CYP1A1 *Ile/Val* ill. *Val/Val* allél és az UGT1A1*28 allél gyakorisága és a fej- nyaki daganatok kockázatnövekedése között. A két gén expressziós aktivitásának megváltozása egyrészt a biotranszformáció I-es fázisában magasabb karcinogén metabolikus aktivációt, másrészt a II-es fázisban alacsonyabb UGT1A1 enzimszintet eredményez, ami a detoxifikáció hatásfokát redukálja és így közvetetten hozzájárul a daganat kialakulásához. A vizsgálat során sikerült bizonyítani, hogy ezek az allélek a túlélést is szignifikánsan csökkentik. Jelen tanulmány az első, amely az UGT1A1*28 genotípus gyakorisága és a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatnövekedése között szignifikáns összefüggést talált. Továbbá ez az első közlemény, amely a CYP1A1 *Ile/Val* valamint az UGT1A1 allél-polimorfizmusok fej-nyak rákok túlélésére gyakorolt hatását vizsgálta, s eredményeink szerint a CYP1A1 *Ile/Val* és a *Val/Val* allél variánsok, valamint az UGT1A1*28 allél variáns a malignus fej-nyaki daganatok túlélését szignifikánsan csökkentik. A két high-risk allél együttes hordozása a túlélést szignifikánsan tovább rontja. Bár a CYP1A1 és az UGT1A1 genetikai polimorfizmusok és a fül-orr-gégészeti

területen kialakuló daganatok közti kapcsolat további nagyobb elemszámú vizsgálattal történő tanulmányozása szükséges, eredményeink mégis előrevetítik, hogy a CYP1A1 *Ile/Val* ill. *Val/Val* variánsok, valamint az UGT1A1*28 biomarkerként való felhasználása hasznos segítséget nyújthat a prevencióban és prognosztikai tényezőként alkalmazható az egyénre szabott terápia kialakításában.

Amennyiben a fenti, vagy a fentiekhez hasonló molekuláris prediktív epidemiológiai biomarker vizsgálatokkal egyéni rizikóbecslést végzünk, megismerjük az egyén érzékenységét, a primer prevenció egyik hatékony eszközéhez, a kemoprevencióhoz is fordulhatunk segítségért. A primer prevenció speciális formája a kemoprevenció, amikor is kifejezetten betegségmegelőzési cézzal olyan gyógyszert, illetve természetes vagy mesterségesen előállított vegyületet vagy vegyületeket fogyasztunk, amelynek hatását e téren már bizonyították. Mindezek ellenére a kemoprevenció mindmáig szélesebb körben nem került alkalmazásra a fej-nyak rákok megelőzésére.

Mint említettük, Plotnikov és orosz munkacsoportja írta le először a bemetil (2-mercaptobenzimidazol) vegyületet, mely egy új gyógyszercsoporthoz, az actoprotectorokhoz tartozik, erős antimutagén hatást mutatva. Az aktív bemetil származékok, így pl. az afobazol antimutagén hatását előzetes in vivo vizsgálatok már igazolták. Mivel egy kemopreventív szer antimutagén és rákellenes hatása közötti átfedés csaknem 90 %, így az előzetes in vitro vizsgálatok eredményei alapján megvizsgáltuk mint lehetséges kemopreventív szer, az afobazol DMBA indukálta onkogén (*Ha-ras*)/ szuppresszor gén (*p53*) overexpresszióra gyakorolt hatását. Mint ismeretes mindkét általunk vizsgált gén fontos szerepet játszik a carcinogenezisben. Ezen gének overexpressziója, mint korai behatároló biológiai marker, jelenthet átmeneti vagy folyamatos carcinogen expozíció okozta korai biológiai hatást (99-103). Az afobazol-ról előzetesen kimutatták, hogy képes csökkenteni a reaktív oxigén származékok (ROS) akkumulációját és növekedést indukálhat a kataláz (antioxidatív) aktivitásban patkányokban (104). Az antioxidáns tulajdonságai által meghatározott antimutagén aktivitását a dózis és a beadás ideje befolyásolta (105).

A PhD értekezésben leírt DMBA *Ha-ras* onkogén expresszióra gyakorolt hatása megegyezett az előzetes eredményekkel (42, 43) Az afobazol hatása a DMBA indukálta *Ha-ras* és *p53* gének overexpressziójára időfüggő volt. A legerősebb szuppresszor hatást 48 órával az

afobazol kezelés után figyeltünk meg. Ez az eredmény hasonló volt a korábban tesztrendszerünkben vizsgált *E-2-* (4'-methoxybenzylidene)-1-benzosuberone kapcsán leírtakkal (43). 72 órával a kezelést követően azonban a két gén ksfokú expresszió növekedése volt újra látható, mely az afobazol kemopreventív hatásának csökkenését jelzi. A kemopreventív hatás az afobazol és a DMBA kezelés beadási idejétől is függött. A legjelentősebb DMBA indukálta overexpresszió csökkenést az afobazol és a DMBA egyidőben történő adásánál láttunk, amikor mindkét gén overexpressziója minden szövetben csökkent.

Eredményeink azt sugallják, hogy az afobazol hatással lehet a DMBA metabolikus aktivációjára, felelős lehet a vegyület mutagen aktivitásáért. Megfigyeléseink tovább erősítik korábbi in vitro eredményeken alapuló feltételezésünket, miszerint az afobazol in vivo kemopreventív hatással rendelkezik.

Az individuális kockázat ismeretében bizonyos betegségek megjelenése a primer és szekunder prevenció eszközeivel megelőzhető lenne. A genetikai rizikótényezők nem változtathatók meg, de segítségükkel azonosíthatók a fokozottan veszélyeztetett csoportok, akiknél különösen fontos a környezeti kockázati tényezők elkerülése, és a rendszeres követés, immun- és kemoprevenció alkalmazása. A jövőbeni daganatmegelőzés egyik legfontosabb feladata olyan biomarkerek kutatása, amelyek a mutagénekkel szembeni általános érzékenység mellett az egyén genetikai polimorfizmusát is mérik, ezáltal segítve a személyre szabott terápia hatásosságának növelését. Az egyén pontos genetikai hajlamosító tényezőit figyelembe véve a terápia hatékonysága előre felbecsülhető, illetve ennek ismeretében a kezelés eredményessége növelhető. Jó prognosztikai faktorok esetén a mellékhatások tekintetbe vételével tudunk dönteni a kezelésről, vagy kedvezőtlen esetben agresszívebb, hatékonyabb terápia tervezhető.

VI. Új eredmények összefoglalása

- Jelen értekezésben kimutattuk, hogy a *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziója a malignus fej-nyaki tumorokban szenvedő betegeknél szignifikánsan magasabbak volt, mint a kontrollcsoportban. A definitív kezelést követően a recidívával nem rendelkező betegeknél csökkent a *c-myc*, *Ha-ras* és *p53* gének expressziója, recidiva esetén emelkedett. A leírt eljárás hasznos lehet a definitív terápia után kialakuló, klinikailag még tünetmentes tumor recidívák felismerésére.
- Először alkalmaztunk malignus gége-garat tumorok monitorozására perifériás fehérvérsejtből nyert RNS-t, mint molekuláris és prediktív epidemiológiai biomarkert. A kidolgozott módszer megbízható, a jövőben a klinikai gyakorlatban is könnyen alkalmazható lehet.
- Szignifikáns összefüggést találtunk a CYP1A1 *Ile/Val* ill. *Val/Val* allél és az UGT1A1*28 allél gyakorisága és a fej-nyaki daganatok fokozott kockázata között.
- Elsőként vizsgáltuk a CYP1A1 *Ile/Val* valamint az UGT1A1 allél-polimorfizmusok fej-nyak rákok túlélésére gyakorolt hatását, s eredményeink szerint a CYP1A1 *Ile/Val* és a *Val/Val* allél variánsok, valamint az UGT1A1*28 allél variáns a malignus fej-nyaki daganatos betegek túlélési idejét szignifikánsan csökkentik.
- Az afobazol csökkentette a DMBA indukálta onkogén (*Ha-ras*)/szuppresszor gén (*p53*) overexpressziót in vivo, mely hatás idődependens volt. Az afobazol hatással lehet a DMBA metabolikus aktivációjára, felelős lehet a vegyület mutagén aktivitásáért. Megfigyeléseink tovább erősítik korábbi in vitro eredményeken alapuló feltételezésünket, miszerint az afobazol potenciális in vivo kemopreventív hatással rendelkezik.

VII. Rövidítések jegyzéke

EBV	Epstein-Barr vírus
HPV	Human papilloma vírus
NNN	N-nitrozo-nornikotin
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
CYP1A1	Citokróm P450 1A1
UGT1A1	Uridin-difoszfát-glukuroniltranszferáz 1A1
AHH	Aril-hidrokarbon-hidroxiláz
Ile	Isoleucin
Val	Valin
RFLP	Restriction fragment length polymorphism (restrikciós fragment hosszúság polimorfizmus)
DMBA	Dimethylbenz[α]anthracén
PAH	Polycyclic aromatic hydrocarbon (Policiklusos aromás szénhidrogén)
EDTA	Etilén-diamid-tetraecetsav
PCR	Polymerase chain reaction (polimeráz lánc-reakció)
CI	Confidence interval (konfidencia intervallum-megbízhatósági tartomány)
OR	Odds-ratio (esély hányados)
SD	Standard deviation
ROS	Reaktív oxigén származék

VIII. Irodalomjegyzék

1. *International Agency for Research on Cancer. Globocan 2002 database, <http://www.dep.iarc.fr>.*
2. *Stewart B.W., Kleihues P: World Cancer Report Geneva. International Agency for Research on Cancer, 232-236, 2003.*
3. *Élő J., Gyenes M.: A szájüreg, a garat és a gége daganatainak megelőzése, korai felismerése és kezelése. Orvostovábbképző Szemle, **10**, 13-17, 2003.*
4. *Ottó Sz., Kásler M.: A rosszindulatú daganatok morbiditási és mortalitási helyzete. Motesz magazin, **2**, 14-21, 2007.*
5. *Demográfiai Évkönyv. Magyar Központi Statisztikai Hivatal, 66-67, 2005.*
6. *Várkondi E., Gyory F., Nagy A., Kiss I., Ember I., Kozma L.: Oncogene amplification and overexpression of oncoproteins in thyroid papillary cancer. In vivo, **19**, 465-470, 2005.*
7. *Bánkuti J., Mink A., Gáti I.: Malignus daganatok előfordulása a POTE Fül-orr-gégeklinikáján 1973-1982 között. Fül-orr-gégegyógy, **31**, 17-21, 1985.*
8. *Pytel J.: Rosszindulatú daganatok a Pécsi Orvostudományi Egyetem Fül-orr-gégeklinikájának beteganyagában 1958 és 1972 között. Fül-orr-gégegyógy, **20**, 202-206, 1974.*
9. *Johnson, Newell W.: Az oralis carcinomák etiológiája és rizikófaktorai, különös tekintettel a dohányzásra és az alkoholfogyasztásra. Magyar Onkológia, **45**, 115-122, 2001.*
10. *Ember István: Környezetünk és a rák. Kossuth Kiadó, Bp. 1993.*
11. *Ember I., Kiss I.: Daganatok és daganatmegelőző állapotok molekuláris epidemiológiája. Medicina Kiadó, Bp. 2005.*
12. *Góbel Gy., Németh Á., Szanyi I., Bauer M., Pytel J., Gerlinger I., Szalma J., Ember I. : Fej-nyaki daganatok molekuláris epidemiológiájának aktuális kérdései különös tekintettel a nyálmirigy tumorokra. Magyar Epidemiológia, **5**, 31-40, 2008.*

13. *Ember I.*: Népegészségügyi orvostan. *Dialóg Campus Kiadó*, Bp., 2007.
14. *Ribári O.*: Fül-orr-gégészeti Fej-nyak sebészet. *Medicina Kiadó*, Budapest 1999.
15. *Rubin P.*: Clinical oncology: a multidisciplinary approach for physicians and students (8th ed.), *W.B. Saunders Co.*, Philadelphia, 2001.
16. *Carvalho A.L., Nishimoto I.N., Califano J.A., Kowalski L.P.*: Trend sin incidence and prognosis for head and neck cancer in the United States: a site-specific analysis of the SEER database. *Int J Cancer*, **114**, 806-16, 2005.
17. *Ember I., Kiss I., Sándor J., Varga Cs., Gyöngyi Z., Németh K., Fehér K., Lukács P., Dombi Zs.*: A daganatok és a daganatmegelőző állapotok molekuláris epidemiológiája. *Orvosi Hetilap*, **145**, 507-514, 2004.
18. *Ember I., Kiss I., Sándor J., Németh K.*: A prevenció elvei, gyakorlati megvalósítása és nehézségei. Qui prodest? *Egészségtudomány*, **47**, 254-272, 2003.
19. *Ember I., Kiss I., Gombkötő G., Müller E., Szeremi M.*: Oncogene and suppressor gene expression as a biomarker for ethylene oxide exposure. *Cancer Detect Prev*, **22**, 241-245, 1998.
20. *Leonard J.H., Kearsley J.H., Chenevix-Trench G., Hayward N.K.*: Analysis of gene amplification in head-and-neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*, **48**, 511-515, 1991.
21. *Walker D.R., Bond J.P., Tarone R.E., Harris C.C., Makalowski W., Boguski M.S., Greenblatt M.S.*: Evolutionary conservation and somatic mutation hotspot maps of p53: correlation with p53 protein structural and functional features. *Oncogene*, **18**, 211-218, 1999.
22. *Ember I., Kiss I., Ghodratollah N., Raposa T.*: Effect of ABVD therapeutic protocol on oncogene and tumour suppressor gene expression in CBA/CA mice. *Anticancer Res*, **18**, 1149-1152, 1998.
23. *Kozma L., Kiss I., Nagy A., Szakall Sz., Ember I.*: Investigation of c-myc and K-ras amplification in renal clear cell adenocarcinoma. *Cancer Letters*, **111**, 127-131, 1997.
24. *Friedrich R.E., Giese M., Riethdorf S., Loning T.*: P53 mutation in smears of oral squamous carcinoma. *Anticancer Res*, **20**, 4927-4930, 2000.

25. Harris C., Hollstein M.: Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *New Engl J Med*, **329**, 1318-1327, 1993.
26. Taningher M., Malacarne D., Izzotti A., Ugolini D., Parodi S.: Drug Metabolism polymorphisms as modulators of cancer susceptibility. *Mutat Res*, **436**, 227-261, 1999.
27. Puga A., Nebert D.W, Mckinnon R.A, Menon A.G.: Genetic polymorphisms in human drug-metabolising enzymes: potential uses of reverse genetics to identify genes of toxicological relevance. *Crit Rev Toxicol*, **27**, 199-222, 1997.
28. Lampe J., Butschak G.: The role of cytochrome P-450 in the toxicity of xenobiotics. *Pharmazie*, **33**, 407-411, 1978.
29. Omura T., Ishimura Y., Fujii-Kuriyama Y.: Cytochrome P-450. *Second edition*. Tokyo, Kodansha, 1993.
30. Guengerich FP., Shimada T.: Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes. *Chem. Res. Toxicol*, **4**, 391-407, 1991.
31. Kawajiri K., Fujii-Kuriyama Y.: P450 and human cancer. *Jpn. J. Cancer Res*, **82**, 1325-1335, 1991.
32. Hildebrant CE., Gonzalez FJ., McBride OW., Nebert DW.: Assignment of the human 2, 4, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-inducible cytochrome P1-450 gene to chromosome 15. *Nucleic Acids Res*, **13**, 2009-2016, 1985.
33. Kawajiri K., Nakachi K., Imai K., Watanabe J., Hayashi S.: Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis*, **14**, 1085-1089, 1993.
34. Crofts F., Cosma GN., Currie D., Taioli E., Toniolo P., Garte S.: A novel CYP1A1 gene polymorphism in African-Americans. *Carcinogenesis*, **14**, 1729-1731, 1993.
35. Kawajiri K., Nakachi K., Imai K., Watanabe J., Hayashi S.-I.: The CYP1A1 gene and cancer susceptibility. *Crit. Rev. Oncol. Hematol*, **14**, 77-87, 1993.

36. Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Kavjalainen A., Anttila S., Vainio H.: Point-mutational *Msp* I and *Ile-Val* polymorphism closely linked in the CYP1A1 gene: Lack of association with susceptibility to lung cancer in a Finnish study population. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*, **1**, 485-489, 1992.
37. Karatzas A., Giannatou E., Tzortzis V., Gravas S., Aravantinos E., Moutzouris G., Melekos M., Tsezou A.: Genetic polymorphisms in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) gene and prostate cancer risk in Caucasian men. *Cancer Epidemiology*, **34**, 345-349, 2010
38. Marcuello E., Altés A., Menoyo A., del Rio E., Gómez-Pardo M., Baiget M.: UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *British J of Cancer*, **91**, 678-682, 2004.
39. Palomaki GE., Bradley LA., Douglas MP., Kolor K., David Dotson D.: Can UGT1A1 genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan? *Genetics in Medicine*, **11**, 21-34, 2009.
40. Schwertner H. A., Vitek J.: Gilbert syndrome, UGT1A1*28 allele, and cardiovascular disease risk: Possible protective effects and therapeutic applications of bilirubin. *Atherosclerosis*, **198**, 1–11, 2008.
41. Ember I., Rády P.: A daganatok kemoprofilaxisáról. *Magyar Onkológia*, **37**, 69-80, 1993.
42. Perjesi P., Bayer Z., Ember I.: Effect of E-2-(4'-methoxybenzylidene)-1-benzosuberone on the 7,12-dimethylbenz(α)anthracene-induced onco/suppressor gene action *in vivo* I,: a 24-hour experiment. *Anticancer Res*, **20**, 475-482, 2000.
43. Perjesi P., Gyöngyi Z., Bayer Z.: Effect of E-2-(4'-methoxybenzylidene)-1-benzosuberone on the 7,12-dimethylbenz(α)anthracene-induced onco/suppressor gene action *in vivo* II,: a 48-hour experiment. *Anticancer Res*, **20**, 1839-1848, 2000.
44. Perjesi P., Ember I., Bozak RE., Nadasz E., Rozmer Z., Varjas T., Hicks R.J.: Effect of the chalcone analog E,E-bis(2-hydroxybenzylidene)acetone on the 7,12-dimethylbenz(α)anthracene-induced *Ha-ras* gene activity *in vivo*. *In Vivo*, **20**, 141-146, 2006.

45. Plotnikov MB., Saratikov AS., Plotnikova TM., Khazanov VA., Panina OP.: Antihypoxic and antioxidative properties of bemetil. *Bull Eksp Biol Med*, **5**, 583-585, 1989.
46. Varjas T., Nadas E., Pusztai Z., Ember I., Gyöngyi Z., Durnjev A., Kiss I.: Anticarcinogenic effect of bemitilin a gene expression model. *International Conference on Apoptosis*, Athens, Greece, May 25-28, 2001.
47. Zahanatev AK., Durnev AD., Seredenin SB.: The antimutagenic activity of afobazole studied *in vivo*. *Eksp Klin Farmakol*, **2**, 57-59, 2000.
48. Osaka M., Matsuo S., Koh T., Sugiyama T.: Loss of heterozygosity at the N-ras locus in 7,12-dimethylbenz(α)anthracene-induced rat leukemia. *Mol Carcinog*, **18**, 206-212, 1997.
49. Blin N., Stafford DW.: A general method for isolation of high molecular weight DNA from eucaryotes. *Nucleic. Acids. Res*, **3**, 2303-8, 1976.
50. Fang JL., Lazarus P.: Correlation between the UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A1) TATA boks polymorphism and carcinogen detoxification phenotype: significantly decreased glucuronidating activity against benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol(-) in liver microsomes from subjects with the UGT1A1*28 variant. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **13**, 102-109, 2004.
51. Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Kavjalainen A., Anttila S., Vainio H.: Point-mutational *Msp* I and *Ile-Val* polymorphism closely linked in the CYP1A1 gene: Lack of association with susceptibility to lung cancer in a Finnish study population. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*, **1**, 485-489, 1992.
52. Yanamoto S., Kawasaki G., Yoshitomi I., Mizuno A.: P53, mdm2 and p21 expression in oral sqamous cell carcinomas: relationship with clinicopathologic factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, **94**, 593-600, 2002.
53. Ember I., Gyöngyi Z., Kiss I., Ghodratollah N., Arany I.: The possible relationship between onco/suppressor gene expression and carcinogen exposure *in vivo*: evaluation of a potential biomarker in preventive and predictive medicine. *Anticancer Res*, **22**, 2109-2116, 2002.

54. Ember I., Kiss I., Nowrasteh G.: Different H2 haplotypes have a strong influence on oncogene action. *Anticancer Res*, **19**, 1181-1185, 1999.
55. Ember I., Kiss I., Pusztai Zs.: Effect of 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene on onco/suppressor gene action in vivo, short term experiment. *Anticancer Res*, **18**, 445-448, 1998.
56. Ember I., Pusztai Z., Gyöngyi Z., Kiss I.: 1-Nitropyrene induces elevated expression of oncogenes and tumour suppressor genes 24 hours after treatment in CBA/Ca mice. *Anticancer Res*, **20**, 1563-1566, 2000.
57. Gyöngyi Z., Ember I., Kiss I., Varga Cs.: Changes in expression of onco- and suppressor genes in peripheral leukocytes – as potential biomarkers of chemical carcinogenesis. *Anticancer Res*, **21**, 3377-3380, 2001.
58. Gyöngyi Z., Nádas E., Varga C., Kiss I., Ember I.: Long-term effects of 1-nitropyrene on oncogene and tumour suppressor gene expression. *Anticancer Res*, **21**, 3937-3940, 2001.
59. Kiss I., Dezsényi E., Kiss T., Csécei G., Ember I.: Detection of elevated oncogene expressions in brain tumours and their macroscopically healthy surrounding tissues. *Eur J Cancer Prevention*, **7**, 417-419, 1998
60. Nagy A., Kozma L., Kiss I., Ember I., Takacs I., Hajdu J., Narid R. Farid.: Copy number of cancer genes predict tumour grade and survival of pancreatic cancer patient. *Anticancer Res*, **21**, 1321-1326, 2001.
61. Várkonyi E., Gyory F., Nagy A., Kiss I., Ember I., Kozma L.: Oncogene amplification and overexpression of oncoproteins in thyroid papillary cancer. *In vivo*, **19**, 465-470, 2005.
62. Brodeur GM.: Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced stages. *Science*, **244**, 1121-1124, 1984.
63. de Rosa I., Stabiano S., Lo Muzio L., Delfino M., Lucariello A., Coppola A., de Rosa G., Cully C.: Potentially malignant lesions of the lip. Role of silver staining nucleolar organizer regions, proliferating cell nuclear antigen, p53 and c-myc in differentiation and prognosis. *J Oral Pathol Med*, **28**, 252-258, 1999.

64. Field J.K., Spandidos D.A.: The role of ras and myc oncogenes in human solid tumours and their relevance in diagnosis and prognosis. *Anticancer Res*, **10**, 1-22, 1990.
65. Ginos M.A., Page G.P., Michalowicz B.S., Patel K.J., Volker S.E., Pambuccian S.E., Ondrey F.G., Adams G.L., Gaffney P.M.: Identification of a gene expression signature associated with recurrent disease in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res*, **64**, 55–63, 2004.
66. Murai M., Shen X., Huang L., Carpenter W.M., Lin C.S., Silverman S, Regezi J, Kramer RH.: Overexpression of c-met in oral SCC promotes hepatocyte growth factor-induced disruption of cadherin junctions and invasion. *Int J Oncol*, **25**, 831-840, 2004.
67. Okami K., Reed A.L., Cairns P., Koch W.M., Westra W.H., Wehage S., Jen J., Sidransky D.: Cyclin D1 amplification is independent of p16 inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene*, **18**, 3541-3545, 1999.
68. Ozanne B., Richards S., Hendler F., Burns D., Gusterson B.: Overexpression of the EGF-receptor is a hallmark of squamous cell carcinomas. *J Pathol*, **149**, 9-14, 1986.
69. Saranath D., Chang S.E., Bhoite R.G., Panchal R.G., Kerr I.B., Mehta A.R., Johnson N.W., Deo M.G.: High frequency mutation in codons 12 and 61 of H-ras oncogene in tobacco-related human oral carcinoma in India. *Br J Cancer*, **63**, 573-578, 1991.
70. Saranath D., Panchal R.G., Nair R., Mehta A.R., Sanghavi V., Deo M.G.: Restriction fragment length polymorphism of the L-myc gene in oral cancer patients. *Br J Cancer*, **61**, 530-555, 1991.
71. Sheng Z., Barrois M., Kljanienco J., Micheau C., Richard J.M., Riou G.: Analysis of the c-H-ras-1 gene for deletion, mutation, amplification and expression of lymph node metastases of human head and neck carcinomas. *Br J Cancer*, **62**, 398-404, 1990.
72. Vacchi-Suzzi M., Bocciolini C., Bertarelli C., Dall'Olio D.: Ki-67 proliferation rate as a prognostic marker in major salivary gland carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, **119**, 677-83, 2010.

73. Yamamoto T., Ikawa S., Akiyama T., Semba K., Nomura N., Miyama N.: Similarity of a protein encoded by human c-erb-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature*, **219**, 230-234, 1986.
74. Chang F., Syrjänen S., Tervahauta A., Syrjänen K.: (1993) Tumourigenesis associated with the p53 tumour suppressor gene. *Br J Cancer*, **68**, 653-661, 1993.
75. Rawnsley J.D., Srivatsan E.S., Chakrabarti R., Billings K.R., Wang M.B.: Deletion analysis of the p16/CDKN2 gene in head and neck squamous cell carcinoma using quantitative polymerase chain reaction method. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, **123**, 863-867, 1997.
76. Ember I., Kiss I., Raposa T.: The usefulness of in vivo gene expression investigation from peripheral white blood cells: a preliminary study. *Eur J Cancer Prevention*, **8**, 331-334, 1999.
77. Nebert DW., Mckinnon RA., Puga A.: Human drug-metabolising enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol*, **15**, 273-280, 1996.
78. Gonzalez FJ.: The role of carcinogen-metabolizing enzyme polymorphisms in cancer susceptibility. *Reprod Toxicol*, **11**, 397-412, 1997.
79. Cosma G., Crofts F., Taioli E., Toniolo P., Garte S.: Relationship between genotype and function of the human CYP1A1 gene. *J. Toxicol Environ Health*, **40**, 309-316, 1993.
80. Crofts F., Taioli E., Trachman J., Cosma GN., Currie D., Toniolo P., Garte SJ.: Functional significance of different human CYP1A1 genotypes. *Carcinogenesis*, **15**, 2961-2963, 1994.
81. Kawajiri K., Nakachi K., Imai K., Yoshii A., Shinoda N., Watanabe J.: Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P4501A1 gene. *FEBS*, **263**, 131-133, 1990.
82. Nakachi K., Imai K., Hayashi S., Kawajiri K.: Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res*, **53**, 2994-2999, 1993.

83. Sivaraman L., Leatham MP., Yee J.: CYP1A1 genetic polymorphisms and in situ colorectal cancer. *Cancer Res*, **54**, 3692-3695, 1994.
84. Taioli E., Trachman J., Chen X., Toniolo P., Garte SJA.: A CYP1A1 RFLP is associated with breast cancer in African American women. *Cancer Res*, **55**, 3757-3758, 1995.
85. Bartsch H., Nair U., Risch A., Rojas M., Wikman H., Alexandrov K.: Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **9**, 3-28, 2000.
86. Hahn M., Hagedorn G., Kuhlisch E., Schackert HK., Eckelt U.: Genetic polymorphism for drug metabolizing enzymes and susceptibility to oral cavity cancer. *Oral Oncol*, **38**, 486-490, 2002.
87. Hashibe M., Brennan P., Stange RC., Bhisey R., Cascorbi I., Lazarus P., Oude Ophuis MB., Benhamou S., Foulkes WD., Katoh T., Coutelle C., Romkes M., Gaspari .L, Taioli E., Boffetta P.: Meta and pooled analysis of GSTM1, GSST1, GSTP1 and CYP1A1 genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **12**, 1509-1517, 2003.
88. Sato M., Sato T., Izumo T., Amagasa T.: Genetic polymorphism of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to oral cancer. *Carcinogenesis*, **20**, 1927-1931, 1999.
89. Sreelekha TT., Ramadas K., Pandey M., Thomas G., Nalinakumari KR., Pillai MR.: Genetic polymorphism of CYP1A1, GSTM1 and GSST1 genes in Indian oral cancer. *Oral Oncol*, **37**, 593-598, 2001.
90. Morita S., Yano M., Tsujinaka T., Akiyama Y., Taniguchi M., Kaneko K., Miki H., Fujii T., Yoshino K., Kusuoka H., Monden M.: Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and susceptibility to head and neck squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer*, **80**, 685-688, 1999.
91. Reszka E., Czekaj P., Adamska J., Wasowicz W.: Relevance of glutathione S-transferase M1 and cytochrome P450 1A1 genetic polymorphisms to the development of head and neck cancers. *Clin Chem Lab Med*, **46**, 1090-1096, 2008.

92. Gronau S., Koenig-Greger D., Jerg M., Riechelmann H.: Gene polymorphisms in detoxification enzymes as susceptibility factor for head and neck cancer? *Otolaryngol Head Neck Surg*, **128**, 674-680, 2003.
93. Tai J., Yang M., Ni X., Yu D., Fang J., Tan W., Huang Z., Wu C., Chen X., Wang G., Zhou W., Chen X., Zhang W., Ma L., Lin D., Han D.: Genetic polymorphisms in cytochrome P450 genes are associated with an increased risk of squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx in a Chinese population. *Cancer Genet Cytogenet*, **196**, 76-82, 2010.
94. Sabitha K., Reddy MV., Jamil K.: Smoking related risk involved in individuals carrying genetic variants of CYP1A1 gene in head and neck cancer. *Cancer Epidemiol*, **34**, 587-592, 2010.
95. Chun-Yu L., Po-Min C., Tzeon-Jye C., Jin-Hwang L., Jen-Kou L., Tzu-Chen L., Wei-Shone C., Jeng-Kae J., Huann-Sheng W., Wei-Shu W.: UGT1A1*28 Polymorphism Predicts Irinotecan-induced Severe Toxicities Without Affecting Treatment Outcome and Survival in Patients With Metastatic Colorectal Carcinoma. *Cancer*, **112**, 1932-1940, 2008.
96. Côté J-F., Kirzin S., Kramar A., Mosnier J-F., Diebold M. D., Soubeyran I., Thirouard A. S., Selves J., Laurent-Puig P., Ychou M.: UGT1A1 Polymorphism Can Predict Hematologic Toxicity in Patients Treated with Irinotecan. *Clinical Cancer Research*, **13**, 369-375, 2007.
97. Sparks R., Ulrich C. M., Bigler J., Tworoger S. S., Yasui Y., Rajan K.B., Porter P., Stanczyk F.Z., Ballard-Barbash R., Yuan X., Gang Lin M., McVarish L., Aiello E. J., McTiernan A.: UDP-glucuronosyltransferase and sulfotransferase polymorphisms, sex hormone concentrations, and tumor receptor status in breast cancer patients. *Breast Cancer Res*, **6**, 488-498, 2004.
98. Lacko M., Roelofs J., te Morsche R., Voogd A., Ophuis O., Peters W., Manni J.: Genetic polymorphism in the conjugating enzyme UGT1A1 and the risk of head and neck cancer. *Int J Cancer*, 2010 Mar 3. [Epub ahead of print]
99. Ember I., Kiss I., Vermes E.: Early effect of cyclophosphamide on oncogene expression *in vivo*. *In Vivo*, **12**, 201-208, 1998.

100. Ember I., Kiss I., Pusztai Z.: Effect of 7,12-dimethylbenz(α) anthracene on onco/suppressor gene action *in vivo*. A short-term experiment. *Anticancer Res*, **18**, 445-448, 1998.
101. Pelling JC., Ernst SM., Strawhecker JM., Johnson JA., Nairn RS., Slaga TJ.: Elevated expression of Ha-ras is an early event in two-stage carcinogenesis in SENCAR mice. *Carcinogenesis*, **9**, 1599-1602, 1986.
102. Pelling JC., Fisher SM., Neades R., Strawhecker J., Schweicker L.: Elevated expression and point mutation of the Ha-ras protooncogene in mouse skin tumors promoted by benzyl peroxide and other promoting agents. *Carcinogenesis*, **8**, 1481-1484, 1987.
103. Wilson NM., Christou M., Tumer CR., Wrighton SA., Jefcoate CR.: Binding and metabolism of benzo(α)pyrene and 7,12-dimethylbenz(α)anthracene by seven purified forms of cytochrome P-450. *Carcinogenesis*, **5**, 1475-1483, 1984.
104. Silkina IV., Zenina TA., Seredenin SB., Mirzoian RS.: Effect of afobazole on the accumulation of free radical oxidation products and the catalase activity in rats with cerebral ischemia. *Eksp Klin Farmakol*, **4**, 47-50, 2006.
105. Zhanataev AK., Durnev AD., Seredin SB.: Antimutagenic activity of afobazole in various regiments of treatment. *Bull Exp Biol Med*, **11**, 1077-1079, 2000.

IX. Közlemények

Az értekezés alapját képező in extenso közlemények

1. Szanyi I., Gőbel Gy., Ablonczy R., Geringer I., Lujber L., Pytel J.: Rosszindulatú fej-nyaki daganatok epidemiológiai adatainak elemzése 1983-2002 között a Dél-Dunántúli Régióban. *Magyar Epidemiológia*, **4**: 197-206, 2007.
2. Szanyi I., Lujber L., Gerlinger I., Pytel J., Bauer M., Csejtei A., Szele E., Gombos K., Kiss N., Seredenin S., Yarkova M., Ember I.: In vivo effects of Afobazole (2-Mercaptobenzimidazole Derivate) on the 7,12-Dimethylbenz (α) anthracene -induced Oncogene and Supressor Gene Expression. *In Vivo*, **21**: 1059-1064, 2007. imp. f.: 1,143 cit. index: 2
3. Szanyi I., Bauer M., Pytel J., Gerlinger I., Gőbel Gy., Böröczki G., Szabadi É., Fehér K., Ember Á., Ember I., Kiss I.: Changes in expressions of oncogenes and TP53 tumour suppressor gene as biomarkers in malignant head and neck cancers. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, **268**: 1041-1046, 2011. 2009-es imp.f.: 1,167
4. Szanyi I., Ráth G., Móricz P., Somogyvári K., Révész P., Gerlinger I., Orsós Zs., Ember I., Kiss I.: Effects of cytochrome P450 1A1 (CYP 1A1) and UGT-glucuronyltransferase 1A1 (UGT 1A1) allelic polymorphisms on the risk of development and the prognosis of head and neck tumors. *European Journal of Cancer Prevention*. Megjelenés alatt. 2011.

Egyéb közlemények

1. Szuhai K., Méhes G., Kosztolányi Gy., Kajtár P., **Szanyi I.**, Lendvai G., Pajor L.: Interfázis citogenetika alkalmazása a DNS tartalom változásának megítélésére gyermekkori acut lymphoid leukaemiában (ALL). *Orvosi Hetilap*, **138**: 3111-3119, 1997.

2. Pajor L., Szuhai K., Méhes G., Kosztolányi G., Jáksó P., Lendvai G., **Szanyi I.**, Kajtár P.: Combined Metaphase, Interphase Cytogenetic and Flow Cytometric Analysis of DNA Content of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia.
Cytometry, **34**: 87-94, 1998. imp. f.: 2,317 Cit.index: 15
3. Gerlinger I., Dóczi T., **Szanyi I.**, Bánhegyi Gy., Pytel J.: A craniofacialis resectio szerepe a rosszindulatú orrmelléküreg-daganatok sebészi kezelésében.
Fül-,orr-,gégegyógyászat, **49**: 152-160, 2003.
4. **Szanyi I.**, Bauer M., Nagy Gy., Pytel J.: Perilymphe-fistula gyanúja miatt végzett exploratív tympanotomiák eredményei.
Fül-,orr-,gégegyógyászat, **49**: 201-206, 2003.
5. Móricz P., Solt J., Ráth G., **Szanyi I.**, Pytel J.: Hangprotézis alkalmazása total laryngectomia és partialis pharyngectomia után kialakult algarat-nyelőcső átmenet szűkülete esetén.
Fül-,orr-,gégegyógyászat, **50**: 340-344, 2004.
6. Lujber L., Gerlinger I., **Szanyi I.**, Pytel J.: Ellenőrző gasztroszkópia a beültetett tápszondán keresztül perkután endoszkópos gasztrosztóma készítésekor.
Fül-,orr-,gégegyógyászat, **50**: 327-329, 2004.
7. **Szanyi I.**, Göbel Gy., Ablonczy R., Móricz P., Pupp L., Lujber L., Pytel J.: Rosszindulatú daganatok a PTE ÁOK Fül-, Orr-, Gégeszeti és Fej-, Nyaksebészeti Klinika beteganyagában 1983-2002 között.
Fül-,orr-,gégegyógyászat, **50**: 372-375, 2004.
8. Gerlinger I., Ráth G., **Szanyi I.**, Pytel J.: Myringoplasty for anterior and subtotal tympanic membrane perforations using the KTP laser.
European Archives of Oto-rhino-laryngology, **263**: 816-819, 2006. imp.f.:0,822 cit. index: 2

9. Németh Á., **Szanyi I.**, Dombi Zs., Csontos Zs., Pytel J., Góbel Gy., Bauer M., Ember Á.: Elevated Gene Expressions in Peripheral Leukocytes as a Biomarker of Pharyngolaryngeal Tumour Patients.

Central European Journal Occupational and Environmental Medicine, **11**: 16-20, 2005.

10. Gerlinger I., Bakó P., **Szanyi I.**, Móricz P., Ráth G., Lujber L., Móricz K., Pytel J.: Lézerstapedotomia - az otoscleroticus stapes fixatio korszerű megoldása.

Orvosi Hetilap, **148**: 2241-2247, 2007.

11. Gerlinger I., Bakó P., **Szanyi I.**, Móricz P., Ráth G., Lujber L., Móricz K., Pytel J.: Lézer stapedotomia Nitinol piston alkalmazásával.

Fül-orr-gégegyógyászat, **53**: 100-108, 2007.

12. Gombos K., Szele E., Kiss I., Varjas T., Puskás L., Kozma L., Juhász F., Kovács E., **Szanyi I.**, Ember I.: Characterization of microarray gene expression profiles of early stage thyroid tumours.

Cancer Genomics Proteomics, **4**: 403-409, 2007.

13. Gerlinger I., Kárász T., Somogyvári K., Ráth G., **Szanyi I.**, Móricz P., Boenisch M.: Extracorporal septal reconstruction with polydioxanone (PDS) foil.

Clinical Otolaryngology, **32**: 465-470, 2007. imp. f.: 1,477 cit. index: 3

14. Rath G., Bauer M., Pytel J., Vona I., **Szanyi I.**, Lujber L., Gerlinger I.: Ionomer cement for reconstruction of the long process of the incus: the Pecs experience.

Clinical Otolaryngology, **33**: 116-120, 2008. imp. f.: 1,614 cit. index: 2

15. Lujber L., Gerlinger I., Fábíán Gy., **Szanyi I.**, Telegdy I., Pytel J.: A novel and inexpensive model for practising upper gastrointestinal endoscopy and percutaneous endoscopic gastrostomy techniques.

Endoscopy, **40**: Suppl 2: E73, 2008. imp. f.: 6,091

16. Göbel Gy., Németh Á., **Szanyi I.**, Bauer M., Pytel J., Gerlinger I., Szalma J., Ember I.: Fejnyaki daganatok molekuláris epidemiológiájának aktuális kérdései, különös tekintettel a nyálmirigy daganatokra.

Magyar Epidemiológia, **5**: 31-40, 2008.

17. Gerlinger I., Göbel Gy., **Szanyi I.**, Tóth E., Weininger Cs.: Primary carcinoma of the frontal sinus: a case report and review of the literature.

European Archives of Oto-rhino-laryngology, **265**: 593-597, 2008. imp. f.: 0,843 cit. index: 1

18. Gerlinger I., Tóth M., Lujber L., **Szanyi I.**, Móricz P., Somogyvári K., Németh A., Ráth G., Pytel J., Mann W.: Necrosis of the long process of the incus following stapes surgery: New anatomical observations.

Laryngoscope, **119**: 721-726, 2009. imp. f.: 2,018

19. Pfund Z., Trauninger A., **Szanyi I.**, Illes Z.: Long-lasting airplane headache in a patient with chronic rhinosinusitis.

Cephalalgia, **30**: 493-495, 2010. imp. f.: 3,464 cit. index: 1

20. Nádas E., Clark JS., **Szanyi I.**, Varjas T., Ember I., Baliga R., Arany I.: Epigenetic modifiers exacerbate oxidative stress in renal proximal tubule cells.

Anticancer Research, **29**: 2295-2299, 2009. imp. f.: 1,428

21. Kádár B., Gombos K., Szele E., Göbel Gy., **Szanyi I.**, Ember I.: Az Isoflurane in vivo hatástani vizsgálata.

Magyar Epidemiológia, **5**: 181-190, 2008.

22. Csejtej A., Tibold A., Koltai K., Varga Zs., **Szanyi I.**, Göbel Gy., Prantner I., Steffler D., Fehér G., De Blasio A., Ember I., Kiss I.: Association between XRCC 1 polymorphisms and head and neck cancer in Hungarian population.

Anticancer Research, **29**: 4169-4173, 2009. imp. f.: 1,428 Cit. index: 1

23. Gőbel Gy., Gombos K., Szele E., Kálmán E., Budán F., Gerlinger I., Fiscina F., **Szanyi I.**, Ember Á., Németh Á., Ember I.: Retrospective analysis of malignant salivary gland tumors in Hungarian population between 1987-2006.

European Journal of Oncology, **14**: 209-215, 2009. imp. f.: 0,325

24. Szanyi I., Gerlinger I., Lujber L., Szabadi É., Burian A., Révész P., Ember I., Kiss I.: Onkogén és tumorsuppresszor génexpresszió változások biológiai markerként való alkalmazása malignus fej-nyaki daganatokban.

Fül-orr-gégegyógyászat, **57**: 66-72, 2011.

Citálható absztraktok:

Csontos Zs., Kiss I., **Szanyi I.**, Csejtei A., Bujdosó L., Illényi L., Kassai M., Lukács L., Ember I., Horváth Ö. P.: Génexpressziós profilváltozás colorectalis daganatokban Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám 2005 pp: 36

Gergely P., Kádár B., Ember Á., Nádas E., Varjas T., Orsós Zs., **Szanyi I.**, Kiss I.: Flavin -7 állatkísérletes vizsgálata különös tekintettel kulcs, onko és szupresszorgének expressziójára Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám 2005 pp:42

Herczeg M., Brunner Zs., **Szanyi I.**, Kiss I., Orsós Zs., Zólyomi A., Csontos Zs., Molnár K., Gergely P., Kádár B., Ember I.: Stimulin BLT fantázianevű készítmény állatkísérletes vizsgálata Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám 2005 pp:44

Szanyi I., Németh Á., Dombi Zs., Csontos Zs., Gőbel Gy., Ember I.: Az emelkedett onkogén aktiváció, mint biomarker, vizsgálata leukocitákban faringolaringeális tumoros megbetegedésekben Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa, Pécs, 2005. április 1-2.

Magyar Epidemiológia Supplementum, II. évfolyam 1. szám 2005 pp:83

K. Gombos, E. Szele, M. Herczeg, Zs. Brunner, **I. Szanyi**, K. Molnár, P. Gergely, Gy. Mucsi, Zs. Varga, I. Ember: A VitaCalen® krónikus fogyasztása során észlelt eredményeink állatkísérletes modellben IIIrd Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology, 3-4 November 2006, Pécs

Magyar Epidemiológia Supplementum, III. évfolyam 2006, pp: S41

I. Szanyi, Á. Németh, A. Csejtej, I. Prantner, E. Pázsit, L. Lujber, M. Bauer, I. Ember: Onco/suppressor gén expresszió, mint perifériás vér biomarkere sebészileg kezelt fej-nyaki daganatos esetekben IIIrd Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology, 3-4 November 2006, Pécs

Magyar Epidemiológia Supplementum, III. évfolyam 2006, pp: S77

Gőbel Gy., Németh Á., **Szanyi I.**, Bauer M., Pytel J., Gerlinger I., Szalma J., Ember I.: A fej-nyaki daganatok molekuláris epidemiológiájának aktuális kérdései különös tekintettel a nyálmirigy tumorokra NETT XVI. Nagygyűlése Pécs, 2008. április 17-19.

Magyar Epidemiológia Supplementum, V. évfolyam, 2008, pp:45

Szanyi I., Gőbel Gy., Ablonczy R., Gerlinger I., Lujber L., Bauer M., Pytel J.: Rosszindulatú fej-nyaki daganatok epidemiológiai adatainak elemzése 1983-2002 között a Dél-dunántúli régióban NETT XVI. Nagygyűlése Pécs, 2008. április 17-19.

Magyar Epidemiológia Supplementum, V. évfolyam, 2008, pp:94

F. Budán, Gy. Gőbel, **I. Szanyi**, M. Bauer, G. Nowrasteh, Zs. Varga, J. Cseh, G. Horváth, I. Prantner, P. Perjési, I. Ember, Z. Gyöngyi: Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by N-Methyl-N-Nitrosourea 8th International Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-22 October, 2008.

Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3223: A78

B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, Gy. Gőbel, **I. Szanyi**, I. Ember: Effects of Isoflurane on NFkB1, GADD45α JNK1 expressions in the vital organs of CBA/Ca mice 8th International Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-22 October, 2008.

Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3296: A231

K. Gombos, E. Szele, L. Puskás, L. Kozma, F. Juhász, Gy. Gőbel, **I. Szanyi**, I. Ember: Analysis of the connections between signal transduction mechanisms in early-stage thyroid tumours 8th International Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-22 October, 2008.

Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3296: A232

A. Csejtej, A. Tibold, K. Koltai, Zs. Varga, **I. Szanyi**, Gy. Gőbel, I. Prantner, D. Steffler, I. Ember, I. Kiss: Association between XRCC1 polymorphisms and head and neck cancer in Hungarian population 8th International Conference of Anticancer Research Greece, Kos 17-22 October, 2008.

Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3517: A676

Gőbel Gy., Gerlinger I., Pytel J., **Szanyi I.**, Szele E., Gombos K., Ember I.: A malignus nyálmirigy daganatok retrospektív IVth Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology Pécs, 28-29 November, 2008.

Magyar Epidemiológia Supplementum V. évfolyam, pp: S.145, 2008.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Gőbel Gy., **Szanyi I.**, Ember I.: Az Isoflurane hatása az NFKB1, JNK1 és GADD45 α gének expressziós mintázatára IVth Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology Pécs, 28-29 November, 2008.

Magyar Epidemiológia Supplementum V. évfolyam, pp: S.150, 2008.

Kádár B., Gombos K., Szele E., Gőbel Gy., **Szanyi I.**, Ember I.: Az Isoflurane hatása apoptotikus jelátviteli gének expressziójára NETT XVII. Nagygyűlése Marosvásárhely, 2009. április 17-19.

Magyar Epidemiológia VI. évf. 1. szám: S53, 2009.

Gőbel Gy., Gerlinger I., Pytel J., **Szanyi I.**, Szele E., Gombos K., Ember I.: Malignus nyálmirigy daganatok epidemiológiai sajátosságai NETT XVII. Nagygyűlése Marosvásárhely, 2009. április 17-19.

Magyar Epidemiológia VI. évf. 1. szám: S44, 2009.

Ember Á., Budán F., Kiss I., Gőbel Gy., Gombos K., Kiss Zs., Horváth Ö. P., **Szanyi I.**, Horváth G., Csontos Zs., Faluhelyi Zs., Ember I.: Perifériás vér génexpresszióinak vizsgálata; egy potenciális új biomarker a rosszindulatú betegségek monitorozásában NETT XVII. Nagygyűlése Marosvásárhely, 2009. április 17-19.

Magyar Epidemiológia VI. évf. 1. szám: S35, 2009.

I. Szanyi, Zs. Orsós, P. Móricz, I. Ember, I. Kiss: Effect of UDP-glucuronyltransferase 1A1 allelic polymorphisms on the risk of development and prognosis of head and neck cancers International Conference of Preventive Medicine and Public Health Pécs, 19-20 November 2010.

Magyar Epidemiológia VII. évf. 4. szám: S58, 2010.

Prezentációk:

Országos Pathológus Találkozó (Lillafüred 1997), poszter: **Szanyi István**, Dr. Szuhai Károly, Prof. Dr. Pajor László – Kromoszomális aneuploiditás vizsgálata interfázis citogenetikával.

IFOS World Congress Cairo, Egyiptom 2002

Lujber L., Németh A., **Szanyi I.**, Pytel J.: Second Look Endoscopy during Percutaneous Endoscopic Gastrostomy by passing a Laryngofiberscope through the Peg Feeding Tube.

Magyar Fül-orr-gégeorvosok Egyesülete 38. Nemzeti Kongresszusa (Sopron 2004.): **Szanyi István dr.**, Bauer Miklós dr., Nagy Györgyi dr., Pytel József dr.: Perilymphe-fistula diagnózisa és kezelése.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa(Pécs, 2005.04.1-2.) poszter: **Szanyi I.**, Németh Á., Dombi Zs., Csontos Zs., Góbel Gy., Ember Á.: Elevated gene expression in peripheral leukocytes as a biomarker of pharyngolaryngeal tumor patients.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa(Pécs, 2005.04.1-2.) poszter: Csontos Zs., Kiss I., **Szanyi I.**, Csejtei A., Bujdosó L., Illényi L., Kassai M., Lukács L., Ember I., Horváth Ö.P.: A profile shift of gene expression in colorectal neoplasms.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa(Pécs, 2005.04.1-2.) poszter: M. Herczeg, Zs. Brunner, **I. Szanyi**, I. Kiss, Zs. Orsós, A. Zólyomi, Zs. Csontos, K. Molnár, P. Gergely, B. Kádár, I. Ember: The effects of Stimulin-BLT on onco/suppressor gene expression in vivo.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság II. Nemzetközi Kongresszusa(Pécs, 2005.04.1-2.) poszter: Gergely P., Kádár B., Ember Á., Nádasi E., Varjas T., Orsós Zs., **Szanyi I.**, Kiss I.: Flavin-7 állatkísérletes vizsgálata különös tekintettel az onko és szupresszor gének expressziójára.

III. Global Congress on Medicine and Health (Mainz 2006.06.03-2006.06.10):. **I. Szanyi, Á.** Németh, L. Lujber, É. Szabadi: Onco/tumour supressor gene expression changes in head and neck cancers.

19th Meeting of the European Association for Cancer Research (Budapest 2006.07.01-04)-poster: **I. Szanyi, Á.** Németh, A. Csejtej, I. Prantner, E. Pázsit, L. Lujber, M. Bauer, I. Ember: Onco/supressor gene expressions as a biomarker of peripheral blood on surgical treatment of head and neck cancers.

19th Meeting of the European Association for Cancer Research (Budapest 2006.07.01-04)-poster: A. Tibold, A. Csejtej, Z. Dombi, G. Nowrasteh, A. Kvarda, **I. Szanyi**, Zs. Csontos, L. Bujdosó, I. Ember:Association between XRCC1 polymorphizmus and head and neck cancer, and thyroid cancer.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság III. NemzetköziKongresszusa(Pécs, 2006.11.03-04.) : **Szanyi I.**, Gőbel Gy., Ablonczy R.,Móricz P., Pupp L., Lujber L., Pytel J.: Rosszindulatú daganatok a PTE ÁOK Fül-, Orr-, Gégészeti és Fej-, Nyaksebészeti Klinika beteganyagában 1983-2002 között.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság III. Nemzetközi Kongresszusa (Pécs, 2006.11.03-04.) poszter: Gombos K., Szele E., Herczeg M., Brunner Zs., **Szanyi I.**, Molnár K., Gergely P., Mucsi Gy., Varga Zs., Ember I.: A VitaCalen® krónikus fogyasztása során észlelt eredményeink állatkísérletes modellben.

Magyar Molekularis és Prediktív Epidemiológiai Társaság III. Nemzetközi Kongresszusa (Pécs, 2006.11.03-04.) poszter: **Szanyi I.**, Németh Á., Csejtey A., Prantner I., Pázsit E., Lujber L., Bauer M., Ember I.: Onco/supressor gén expresszió, mint perifériás vér biomarkere sebészileg kezelt fej-nyaki daganatos esetekben.

Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nagygyűlése (Pécs, 2008. április 17-19.) : **Szanyi I.**, Gőbel Gy. , Ablonczy R., Geringer I., Lujber L., Pytel J.: Rosszindulatú fej-nyaki daganatok epidemiológiai adatainak elemzése 1983-2002 között a Dél-Dunántúli Régióban.

NETT XVI. Nagygyűlése (Pécs, 2008. április 17-19.): Gőbel Gy., Németh Á., **Szanyi I.**, Bauer M., Pytel J., Gerlinger I., Szalma J., Ember I.: A fej-nyaki daganatok molekuláris epidemiológiájának aktuális kérdései különös tekintettel a nyálmirigy tumorokra.

V Global Congress on Medicine and Health (Klaipeda, Lithuania 2008. 07.07-07.12.) : **Szanyi I.**, Lujber L., Gerlinger I., Pytel J., Bauer M., Csejtey A., Szele E., Gombos K., Kiss N., Seredenin S., Yarkova M., Ember I.: In vivo effects of Afobazole (2-Mercaptobenzimidazole Derivate) on the 7,12-Dimethylbenz (α) anthracene -induced Oncogene and Supressor Gene Expression.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 40. Jubileumi Kongresszusa, nemzetközi részvétellel (2008. október 15-18., Siófok): Lujber L., Gőbel Gy., Nyuschal B., **Szanyi I.**, Móricz P., Gerlinger I., Pytel J.: Variációk egy témára: Hallócsontláncolati rekonstrukció glass-ionomer cementtel.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 40. Jubileumi Kongresszusa, nemzetközi részvétellel (2008. október 15-18., Siófok): **Szanyi I.**, Gőbel Gy., Szabadi É., Böröczki G., Gerlinger I., Lujber L., Bauer M., Pytel J., Ember I: Onco/suppressor gén expresszió változások malignus fej-nyaki daganatokban.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-, Nyaksebész Orvosok Egyesülete 40. Jubileumi Kongresszusa, nemzetközi részvétellel (2008. október 15-18., Siófok): Tóth E., Gerlinger I., Gőbel Gy., **Szanyi I.**, Weninger Cs., Pytel J: Sinus frontalis tumorokról.

8th International Conference of Anticancer Research (Greece, Kos 17-22 October, 2008.): F. Budán, Gy. Gőbel, **I. Szanyi**, M. Bauer, G. Nowrasteh, Zs. Varga, J. Cseh, G. Horváth, I. Prantner, P. Perjési, I. Ember, Z. Gyöngyi: Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by N-Methyl-N-Nitrosourea.

8th International Conference of Anticancer Research (Greece, Kos 17-22 October, 2008.): B. Kádár, K. Gombos, E. Szele, Gy. Gőbel, **I. Szanyi**, I. Ember: Effects of Isoflurane on NFkB1, GADD45α JNK1 expressions in the vital organs of CBA/Ca mice.

8th International Conference of Anticancer Research (Greece, Kos 17-22 October, 2008.): K. Gombos, E. Szele, L. Puskás, L. Kozma, F. Juhász, Gy. Gőbel, **I. Szanyi**, I. Ember: Analysis of the connections between signal transduction mechanisms in early-stage thyroid tumours.

8th International Conference of Anticancer Research (Greece, Kos 17-22 October, 2008.): A. Csejtej, A. Tibold, K. Koltai, Zs. Varga, **I. Szanyi**, Gy. Gőbel, I. Prantner, D. Steffler, I. Ember, I. Kiss: Association between XRCC1 polymorphisms and head and neck cancer in Hungarian population.

A Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa (2008. november 28-29., Pécs): **Szanyi I.**, Gőbel Gy., Szabadi É., Böröczki G., Gerlinger I., Lujber L., Bauer M., Pytel J., Ember I: Onco/suppressor gén expresszió változások, mint biomarkerek, malignus fej-nyaki daganatokban.

A Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa (2008. november 28-29., Pécs): Gőbel Gyula, Gerlinger Imre, Pytel József, **Szanyi István**, Szele Eszter, Gombos Katalin, Ember István: A malignus nyálmirigy daganatok retrospektív vizsgálata az 1986-2006-os időtartamban.

A Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa (2008. november 28-29., Pécs): Kádár Balázs, Gombos Katalin, Szele Eszter, Gőbel Gyula, **Szanyi István**, Ember István: Az Isoflurane hatása az NFkB1, JNK1 és GADD45 α gének expressziós mintázatára.

NETT XVII. Nagygyűlése (Marosvásárhely, 2009. április 17-19.): Kádár B., Gombos K., Szele E., Gőbel Gy., **Szanyi I.**, Ember I.: Az Isoflurane hatása apoptotikus jelátviteli gének expressziójára.

NETT XVII. Nagygyűlése (Marosvásárhely, 2009. április 17-19.): Gőbel Gy., Gerlinger I., Pytel J., **Szanyi I.**, Szele E., Gombos K., Ember I.: Malignus nyálmirigy daganatok epidemiológiai sajátosságai.

NETT XVII. Nagygyűlése (Marosvásárhely, 2009. április 17-19.): Ember Á., Budán F., Kiss I., Gőbel Gy., Gombos K., Kiss Zs., Horváth Ö. P., **Szanyi I.**, Horváth G., Csontos Zs., Faluhelyi Zs., Ember I.: Perifériás vér génexpresszióinak vizsgálata; egy potenciális új biomarker a rosszindulatú betegségek monitorozásában.

Magyar Onkológusok Társasága XXVIII. Kongresszusa Budapest, 2009. november 12-14.: Gombos K., Gőbel Gy., **Szanyi I.**, Ember I.: Malignus nyálmirigydaganatok epidemiológiai vizsgálata.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-Nyaksebész Orvosok 41. Kongresszusa Budapest, 2010. október 13-16.: **Szanyi I.**, Orsós Zs., Móricz P., Ember I., Kiss I.: Az uridin difoszfát glükuronil-transzferáz-1-A1 enzim allélpolimorfizmusának hatása a fej-nyaki daganatok kialakulásának kockázatára, prognózisára.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-Nyaksebész Orvosok 41. Kongresszusa Budapest, 2010. október 13-16.: Móricz P., Mangel L., Járai T., Lujber L., Pytel J., Somogyvári K., **Szanyi I.**, Gerlinger I.: Erbitux-szal kombinált sugárterápiával nyert tapasztalataink.

Magyar Fül-, Orr-, Gége és Fej-Nyaksebész Orvosok 41. Kongresszusa Budapest, 2010. október 13-16.: Török L., Bakó P., Tóth E., Szabadi É., **Szanyi I.**, Lujber L., Gerlinger I.: Távoli áttéteklaphám eredetű malignus fej-nyaki daganatokban – esetismertetések.

International Conference of Preventive Medicine and Public Health Pécs, 19-20 November 2010: **I. Szanyi**, Zs. Orsós, P. Móricz, I. Ember, I. Kiss: Effect of UDP-glucuronyltransferase 1A1 allelic polymorphisms on the risk of development and prognosis of head and neck cancers.

X. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Ember István Professzor Úrnak, hogy doktori iskolájába befogadott, köszönetet mondok munkámban nyújtott folyamatos segítségéért, lelkesítő szavaiért. Hálásan köszönöm témavezetőmnek, Kiss István Tanár Úrnak munkámhoz nyújtott önzetlen segítségét, türelmét. Köszönetet mondok Gerlinger Imre Professzor Úrnak ösztönzéséért, sok segítségéért. Külön köszönettel tartozom a PTE ÁOK Orvosi Népegészségtani Intézet dolgozóinak a munkám alapjául szolgáló kiváló labormunkákért, nevezetesen Brunnerné Bayer Zsuzsának, Herczeg Mónikának, Déri Tibornének. S nem utolsó sorban hálásan köszönöm családomnak a sok türelmet, segítségüket.